



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Identificación secuencial de antibióticos fungicidas  
utilizando reacciones colorimétricas y de  
microcristalización**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**AUTOR**

José Luis MEDRANO ALDEA

**ASESOR**

Dr. Félix Enrique SAAVEDRA NIZAMA

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Medrano J. Identificación secuencial de antibióticos fungicidas utilizando reacciones colorimétricas y de microcristalización [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2020.

---

## HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código Orcid del autor (dato opcional):

0000-0002-0899-8659

Código Orcid del asesor o asesores (dato obligatorio):

0000-0001-8381-7902

DNI del autor:

07428867

Grupo de investigación:

SOCIEDAD Y NATURALEZA

Institución que financia parcial o totalmente la investigación:

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y coordenadas geográficas

LIMA METROPOLITANA

Año o rango de años que la investigación abarcó:

2007 AL 2017



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"Identificación secuencial de antibióticos fungicidas utilizando reacciones colorimétricas y de microcristalización"**

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

**JOSÉ LUIS MEDRANO ALDEA**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

*Diecisiete (17) Sobresaliente*

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 20 de enero de 2020.

*[Firma]*  
Dra. Luisa Pacífica Negrón Ballarte  
Presidenta

*[Firma]*  
Dr. Luis Miguel Visitación Félix Veliz  
Miembro

*[Firma]*  
Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar  
Miembro

*[Firma]*  
Q.F. José Fidel Jáuregui Maldonado  
Miembro

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**



## **AGRADECIMIENTOS**

Mi más profundo agradecimiento a mi asesor y maestro Dr. Félix Enrique Saavedra Nizama por todo su apoyo, paciencia, y entusiasmo para la ejecución y elaboración de la presente tesis.

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación va dedicado a toda mi familia que constantemente me brinda su apoyo para salir adelante y ser la persona quien soy hoy en día.

A Laboratorios MEDIFARMA por  
concedernos los estándares  
secundarios de los fungicidas  
analizados y al Vicerrectorado de  
Investigación y Posgrado de la  
UNMSM por el apoyo otorgado.

## TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
SUMMARY .....	xiv
1. INTRODUCCION.....	1
2. HIPÓTESIS.....	3
3. OBJETIVOS.....	4
3.1 Objetivo general .....	4
3.2 Objetivos específicos.....	4
4. MARCO TEÓRICO .....	5
4.1 Antibióticos fungicidas.....	5
4.1.1 Concepto General .....	5
4.1.2 Evolución.....	5
4.1.3 Clasificación .....	5
4.1.3.1 Azoles .....	6
4.2 Métodos de análisis farmacéutico.....	9
4.2.1 Métodos químicos .....	9
4.2.2 Métodos espectrocópicos .....	9
4.2.3 Métodos electroquímicos .....	9
4.2.4 Métodos de análisis cromatográfico .....	9
4.2.5 Otros métodos de análisis y validaciones .....	10
4.3 Características de análisis de medicamentos según farmacopea .....	10
4.3.1 Preparación de soluciones de reactivos .....	10
4.3.2 Propiedades fisicoquímicas de las sustancias.....	10



4.3.3 Constantes físicas de los medicamentos .....	10
4.3.4 Impurezas de los medicamentos. ....	10
4.3.5 Identificación de los medicamentos .....	11
4.3.6 Métodos de análisis cuantitativo de medicamentos .....	11
4.3.7 Análisis de farmacopea de productos terminados .....	11
4.4 Análisis de antimicóticos azólicos según documentos oficiales .....	11
4.4.1 Farmacopea Británica .....	11
4.4.2 Farmacopea Española.....	12
4.4.3 Farmacopea Americana.....	12
4.4.4 Farmacopea Europea 9.0 .....	12
4.4.5 Análisis según OMS .....	13
4.5 Medicamentos falsificados .....	14
4.5.1 Definición .....	14
4.5.2 Peligros involucrados .....	14
4.5.3 Peligro mundial.....	15
4.5.4 Medicamentos falsificados en el Perú .....	16
4.6 Compuestos de Coordinación y fármacos .....	17
4.6.1 Fundamento para la formación de compuestos de coordinación.....	17
4.6.2 Formación de complejos con metales y fármacos.....	18
4.6.2.1 Formación de complejos con fungicidas azólicos .....	21
5. METODOLOGÍA .....	22
5.1 Factores en estudio.....	22
5.2 Diseño experimental.....	23
5.2.1 Muestras .....	23
5.2.2 Materiales de laboratorio .....	23
5.2.3 Reactivos.....	24
5.3 Preparación de muestras .....	24

5.4 Identificación de antibióticos fungicidas .....	25
5.4.1 Técnica de ensayo a la gota .....	25
5.4.2 Reacciones en tubos de ensayo .....	26
5.4.3 Observación de microcristales .....	26
5.4.4 Flujograma de análisis .....	27
6. RESULTADOS .....	28
7. DISCUSIÓN.....	42
8. CONCLUSIONES.....	45
9. RECOMENDACIONES.....	46
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
11. ANEXO I .....	50
12. ANEXO II .....	53

## ABREVIATURAS

<b>AgNO<sub>3</sub>:</b>	Nitrato de plata.
<b>ATC:</b>	Anatomical, Therapeutic, Chemical Classification System (Sistema de Clasificación Anatómica, Terapéutica, Química).
<b>BPA:</b>	Buenas Prácticas de Almacenamiento.
<b>BPM:</b>	Buenas Prácticas de Manufactura.
<b>Ceph:</b>	Cefalexina.
<b>C-N:</b>	Carbono-nitrógeno.
<b>Co:</b>	Cobalto.
<b>CoCl<sub>2</sub>:</b>	Cloruro de cobalto (II).
<b>Cu:</b>	Cobre.
<b>DIGEMID:</b>	Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas.
<b>HgO:</b>	Óxido de mercurio.
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:</b>	Ácido sulfúrico.
<b>HNO<sub>3</sub>:</b>	Ácido nítrico.
<b>HPLC:</b>	Cromatografía Líquida de Alta Eficacia.
<b>IFA:</b>	Ingrediente Farmacéutico Activo.
<b>IFAs:</b>	Ingredientes Farmacéuticos Activos.
<b>IR:</b>	Infrarojo.
<b>IUPAC:</b>	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.
<b>K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]:</b>	Hexacianoferrato (III) de potasio.
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:</b>	Carbonato de sodio.
<b>NaNO<sub>2</sub>:</b>	Nitrito de Sodio.
<b>NaOH:</b>	Hidróxido de sodio.
<b>NH<sub>4</sub>OH:</b>	Hidróxido de amonio.
<b>Ni:</b>	Níquel.
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de Salud.
<b>PSI:</b>	Pharmaceutical Security Institute (Instituto de Seguridad Farmacéutica).
<b>P/V:</b>	Peso/Volumen.
<b>SIDA:</b>	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.
<b>TLC:</b>	Cromatografía en Capa Fina.

<b>UNMSM:</b>	Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
<b>USP-NF:</b>	Farmacopea de los Estados Unidos-Formulario Nacional.
<b>UV:</b>	Ultra violeta.
<b>V/V/V:</b>	Volumen/Volumen/Volumen.
<b>Zn:</b>	Zinc.
<b>254 nm:</b>	254 nanómetros.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Evolución histórica de los antifúngicos. ....	5
<b>Figura 2.</b>	Clasificación de los antifúngicos por su estructura. ....	6
<b>Figura 3.</b>	Clasificación de antifúngicos según mecanismo de acción. ....	6
<b>Figura 4.</b>	Representación esquemática de un compuesto de coordinación de hexacianoferrato (III) de potasio. ....	17
<b>Figura 5.</b>	Representación esquemática de un complejo formado por el átomo central cobalto (III) y dos moléculas de etilendiamina como ligandos. ....	18
<b>Figura 6.</b>	Representación esquemática de un complejo formado por reacción de lidocaína con nitrato de cobalto. ....	19
<b>Figura 7.</b>	Diagrama esquemático que representa la síntesis del complejo [M (Ceph) (NA) <sub>3</sub> ] Cl. ....	20
<b>Figura 8.</b>	Fotografías de estándares secundarios. ....	23
<b>Figura 9.</b>	Representación esquemática de identificación de fungicidas azólicos. ....	27
<b>Figura 10.</b>	Microcristales de clotrimazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) acuoso, observados al microscopio óptico a 40X. ....	37
<b>Figura 11.</b>	Microcristales de fluconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) acuoso, observados al microscopio óptico a 40X. ....	38
<b>Figura 12.</b>	Microcristales de clotrimazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X. ....	38
<b>Figura 13.</b>	Microcristales de fluconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X. ....	39
<b>Figura 14.</b>	Microcristales de clotrimazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X. ....	39
<b>Figura 15.</b>	Microcristales de fluconazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X. ....	40
<b>Figura 16a.</b>	Microcristales de ketoconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X. ....	40
<b>Figura 16b.</b>	Microcristales de ketoconazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X. ....	41
<b>Figura 17.</b>	Reacción de ensayo a la gota para clotrimazol. ....	50
<b>Figura 18.</b>	Reacción de ensayo a la gota para fluconazol. ....	51

<b>Figura 19.</b> Reacción de ensayo a la gota para ketoconazol. ....	52
<b>Figura 20.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso. ....	53
<b>Figura 21.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro de cobalto alcohólico. ....	54
<b>Figura 22.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de níquel. ....	55
<b>Figura 23.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc. ....	56
<b>Figura 24.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II). ....	57
<b>Figura 25.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso. ....	58
<b>Figura 26.</b> Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico. ....	59
<b>Figura 27.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso. ....	60
<b>Figura 28.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro de cobalto alcohólico. ....	61
<b>Figura 29.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de níquel. ....	62
<b>Figura 30.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc. ....	63
<b>Figura 31.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II). ....	64
<b>Figura 32.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso. ....	65
<b>Figura 33.</b> Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico. ....	66

<b>Figura 34.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso.....	67
<b>Figura 35.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de cobalto alcohólico.....	68
<b>Figura 36.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de complejo de tiocianato de níquel.....	69
<b>Figura 37.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc.....	70
<b>Figura 38.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II).....	71
<b>Figura 39.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso.....	72
<b>Figura 40.</b> Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico.....	73

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Reacción a la gota con muestras de clotrimazol.....	28
<b>Tabla 2.</b> Reacción a la gota con muestras de fluconazol.....	29
<b>Tabla 3.</b> Reacción a la gota con muestras de ketoconazol.....	30
<b>Tabla 4.</b> Reacción a la gota con muestras de miconazol.....	31
<b>Tabla 5.</b> Reacción en tubo con muestras de clotrimazol.....	32
<b>Tabla 6.</b> Reacción en tubo con muestras de fluconazol.....	34
<b>Tabla 7.</b> Reacción en tubo con muestras de ketoconazol.....	35
<b>Tabla 8.</b> Reacción en tubo con muestras de miconazol.....	36



## RESUMEN

La presente investigación tuvo como propósito identificar cualitativamente fungicidas azólicos, de manera secuencial en tres etapas, a través de reacciones colorimétricas y de microcristalización. Se utilizaron estándares secundarios y medicamentos seleccionados aleatoriamente. Las 3 etapas corresponden a: ensayo a la gota (a través de placas Petri con medicamentos comerciales tal cual), reacción en tubos de ensayo (formación de sedimentos con presencia de microcristales coloreados luego de 24 horas de almacenamiento hermético y protegidos de la luz), y observación de microcristales al microscopio óptico (40X). Para las reacciones secuenciales de identificación se precisó de reactivos inorgánicos y compuestos de coordinación denominados comúnmente como complejos. Los resultados muestran que los estándares secundarios y medicamentos con ingredientes farmacéuticos activos de clotrimazol, fluconazol y ketoconazol, se adecuan a este tipo de identificación. Por lo tanto, se concluye que se puede identificar fungicidas azólicos como clotrimazol, fluconazol y ketoconazol, de manera secuencial, a través de reacciones colorimétricas y de microcristalización.

**Palabras clave:** fungicidas azólicos, estándares secundarios, complejos, microcristales.

## SUMMARY

The purpose of this research was to identify azolic fungicides qualitative and sequentially in three stages, through colorimetric and microcrystallization reactions. Secondary standards and medications selected randomly were used. The 3 stages correspond to: drop test (within dishes called Petri and commercial medicines just as they are), reaction in test tubes (with formation of sediments and presence of microcrystals after 24 hours of hermetic storage and protected from light) , and observation of microcrystals under the optical microscope (40X). For this kind of identification —through reactions— inorganic reagents and coordination compounds (commonly referred to as complexes) were required. The results show that the secondary standards and drugs with active pharmaceutical ingredients of clotrimazole, fluconazole and ketoconazole, all they fit to this type of identification. Therefore, it is concluded that azolic fungicides such as clotrimazole, fluconazole and ketoconazole can be identified, sequentially, through colorimetric and microcrystallization reactions.

**Keywords:** azole fungicides, secondary standards, complexes, microcrystals.

## 1. INTRODUCCIÓN

Todos los medicamentos antes de ser liberados al mercado necesitan cumplir con una serie de requisitos exigidos por las autoridades nacionales e internacionales, siguiendo las BPM, BPA, etc. De esta manera se garantiza su calidad, eficacia y seguridad. No obstante, una vez comercializados, éstos siguen siendo controlados por el ente regulador de los medicamentos en el país de comercialización: DIGEMID para el caso de Perú, en donde se efectúan pesquisas rutinarias de control de calidad a modo de asegurar que los medicamentos siguen cumpliendo con los estándares de calidad como cuando fueron fabricados. Para tales efectos de análisis de medicamentos se requieren de técnicas analíticas laboriosas y costosas, en donde se siguen pautas de farmacopeas de referencia y compendios internacionales aceptadas por el país donde se comercializan dichos medicamentos.

Un tipo de clasificación de antifúngicos o antimicóticos se da en base a su estructura química, dentro de ella se tienen a los azoles (compuestos heterocíclicos aromáticos), tales como Clotrimazol, Fluconazol, Ketoconazol y Miconazol. <sup>(1)</sup>

Existen técnicas adicionales de identificación de antifúngicos o antimicóticos azólicos implementadas por investigadores internacionales donde se requieren instrumentos y reactivos costosos y laboriosos, tales como los que se mencionan en los siguientes artículos: Análisis de medicamentos antifúngicos por métodos espectrofotométricos y espectrofluorimétricos en diferentes formas farmacéuticas <sup>(2)</sup>, Determinación espectrofotométrica extractiva de ketoconazol, clotrimazol y fluconazol por formación de pares de complejos iónicos con azul de bromotimol y ácido pícrico <sup>(3)</sup>, Método espectrofotométrico para la determinación de ketoconazol en base a reacciones de amplificación <sup>(4)</sup>, y Estudios espectroscópicos y espectrofotométricos en complejos de transferencia de cargas para medicamentos antifúngicos de clotrimazol <sup>(5)</sup>.

Acorde al Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales editado por la DIGEMID, figuran los fungicidas azólicos de fluconazol y clotrimazol como medicamentos que permiten cubrir las principales atenciones de salud de la población considerando criterios de necesidad, eficacia, seguridad y costo <sup>(6)</sup>, por lo que estos medicamentos son susceptibles de ser falsificados o adulterados, sea en su forma genérica o de marca; por tal motivo, surge la necesidad de disponer de técnicas analíticas alternativas sencillas, asequibles y fiables para que, en corto tiempo, se permita autenticar los fungicidas azólicos mencionados en sus diversas formas farmacéuticas, sin previa separación del principio activo, e incluso en su estado puro como en estándares secundarios, aquí la importancia del desarrollo de la presente investigación, de identificar o complementar métodos para autenticar fungicidas azólicos, de manera cualitativa, con reactivos inorgánicos de bajo coste y fiables.

## **2. HIPÓTESIS**

Los fungicidas azólicos en estándares secundarios y en presentaciones farmacéuticas aleatorias —sin previa separación por métodos instrumentales—, pueden ser identificados de manera secuencial en tres etapas, utilizando reacciones colorimétricas y de microcristalización.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

- ✓ Identificar fungicidas azólicos en estándares secundarios y en medicamentos de presentaciones farmacéuticas aleatorias —sin previa separación por métodos instrumentales—, de manera secuencial en tres etapas, utilizando reacciones colorimétricas y de microcristalización.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Evaluar la reacción de estándares secundarios de clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol con reactivos de complejos inorgánicos.
- ✓ Evaluar la reacción de medicamentos de presentaciones farmacéuticas aleatorias con ingredientes farmacéuticos activos de clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol —sin previa separación por métodos instrumentales—, con reactivos de complejos inorgánicos.
- ✓ Proponer un procedimiento secuencial de identificación de fungicidas azólicos utilizando ensayo a la gota, reacciones colorimétricas y de microcristalización.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Antibióticos fungicidas

#### 4.1.1 Concepto General

Los antifúngicos son sustancias capaces de producir alteraciones en las estructuras de una célula fúngica, inhibiendo su desarrollo, alterando su capacidad de supervivencia, sea de forma directa o indirecta. <sup>(1)</sup>

#### 4.1.2 Evolución

La síntesis de fármacos antimicóticos comenzó en el siglo XX (figura 1) y desde entonces no ha cesado el diseño de nuevas moléculas para combatir las infecciones fúngicas, las cuales han aumentado últimamente con la aparición del SIDA, aplicación de quimioterapia en pacientes oncohematológicos, consumo de fármacos anti rechazo en pacientes trasplantados y la mayor utilización de dispositivos intravasculares. <sup>(1, 7)</sup>

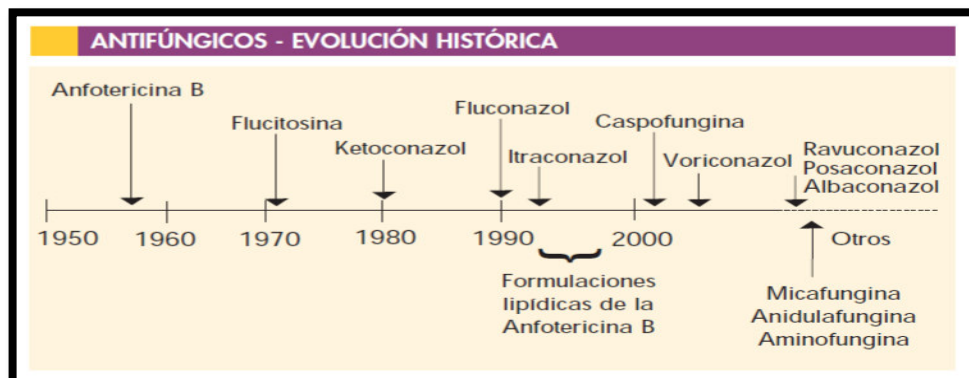


Figura 1. Evolución histórica de los antifúngicos.

Fuente: Revista cubana de farmacia <sup>(1,7)</sup>

#### 4.1.3 Clasificación

Los antimicóticos pueden clasificarse según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros (figura 2); de acuerdo con su origen, en sustancias producidas por organismos vivos o sintetizadas químicamente; de acuerdo con su espectro de acción, en amplio o restringido; y

de acuerdo con el sitio de acción, actúan sobre la membrana citoplasmática, pared y núcleo celular (figura 3). También puede tenerse en cuenta la forma de aplicación, etc. <sup>(7)</sup>

CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIFÚNGICOS POR SU ESTRUCTURA	
<b>POLIENOS</b>	Nistatina, natamicina, anfotericina B
<b>AZOLES</b>	Imidazol: miconazol, clotrimazol, ketoconazol. Triazoles: fluconazol, itraconazol, (ketoconazol). Triazoles de segunda generación: voriconazol, ravuconazol, posaconazol
<b>ALILAMINAS</b>	Terbinafina, naftifina.
<b>LIPOPÉPTIDOS</b>	Papulacandinas. Triterpenos glicosilados. Equinocandinas: caspofungina, anidulofungina, micafungina.
<b>PIRIMIDINAS</b>	Flucitosina.
<b>OTROS</b>	Ioduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvin.

Figura 2. Clasificación de los antifúngicos por su estructura

Fuente: Revista cubana de farmacia <sup>(7)</sup>

ANTIFÚNGICOS, CLASIFICACIÓN SEGÚN MECANISMO DE ACCIÓN
✓ <b>ANTIFÚNGICOS QUE ACTÚAN SOBRE LA MEMBRANA CITOPASMÁTICA:</b>
• Polienos.
• Azoles.
• Alilaminas.
• Tiocarbamatos.
✓ <b>ANTIFÚNGICOS QUE ACTÚAN SOBRE LA PARED:</b>
• Lipopéptidos.
✓ <b>ANTIFÚNGICOS QUE ACTÚAN SOBRE EL NÚCLEO:</b>
• Pirimidinas fluoradas.
• Misceláneos.

Figura 3. Clasificación de antifúngicos según mecanismo de acción.

Fuente: Revista cubana de farmacia <sup>(7)</sup>

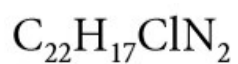
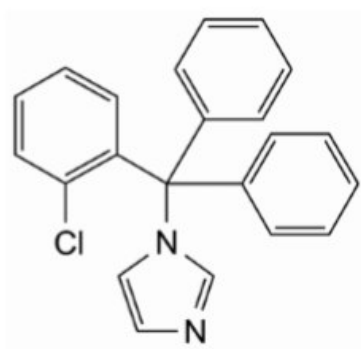
#### 4.1.3.1 Azoles

Los azoles presentan un anillo con átomos de nitrógeno libres unidos por enlace C-N con otros anillos aromáticos. Las propiedades fisicoquímicas, efecto terapéutico y toxicidad varían acorde a la naturaleza de sus anillos aromáticos.



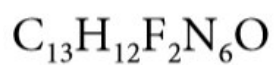
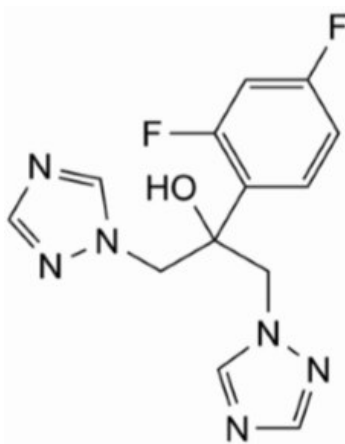
En función al número de nitrógenos en su anillo aromático, se dividen en: imidazoles, donde se encuentran: clotrimazol, miconazol y ketoconazol; triazoles, como fluconazol, itraconazol y voriconazol.

### Clotrimazol



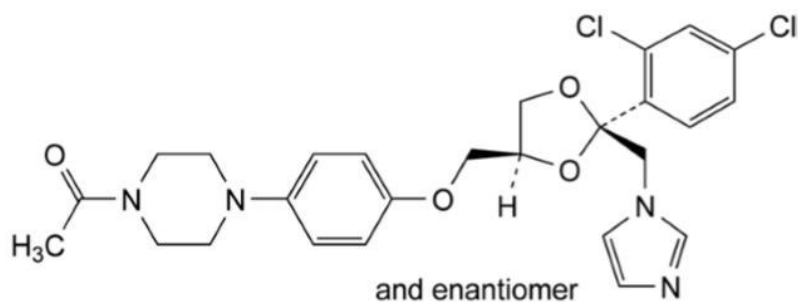
Fuente: Farmacopea europea 9.0 <sup>(13)</sup>

### Fluconazol



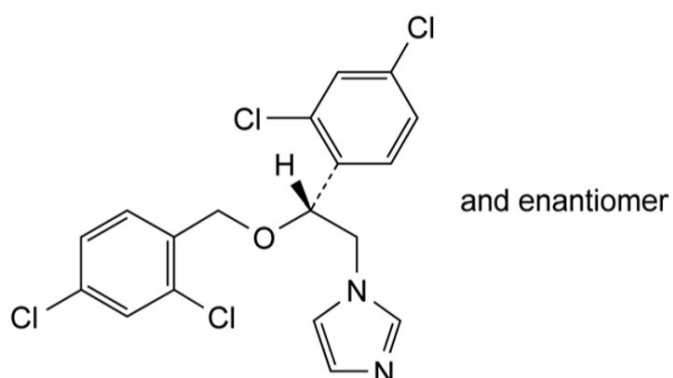
Fuente: Farmacopea europea 9.0 <sup>(13)</sup>

### Ketoconazol



Fuente: Farmacopea europea 9.0 <sup>(13)</sup>

### Miconazol



Fuente: Farmacopea europea 9.0 <sup>(13)</sup>

Los azoles tienen actividad fungistática al inhibir la desmetilación del lanosterol de la membrana citoplasmática fúngica cuando se unen a una de las enzimas del citocromo P-450, ello lleva a la acumulación de metil esteroides y a la reducción de la concentración de ergosterol (un esteroide esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica). <sup>(7)</sup>

## 4.2 Métodos de análisis farmacéutico

### 4.2.1 Métodos químicos:

- **Método gravimétrico**
- **Métodos de titulación:** valoración ácido base en medio acuoso, orgánico y no acuoso.
- **Métodos de valoración de óxido reducción:** yodometría, bromatometría, yodatometría, nitritometría, cerimetría, permanganatometría, dicromatometría.
- **Métodos de titulación de precipitación:** argentometría.
- **Método de titulación complexométrica:** complexometría y mercurimetría. <sup>(8,9)</sup>

### 4.2.2 Métodos espectrocópicos.

- **Métodos de absorción:** espectrometría de absorción atómica, espectrometría de absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible, espectrometría en la región infrarroja, espectrometría de resonancia magnética nuclear.
- **Métodos de emisión:** espectrometría de emisión atómica, fluorimetría.
- **Métodos basados en la dispersión de radiación electromagnética:** espectroscopía Raman, nefelometría, turbidimetría, refractometría.
- **Métodos de análisis de moléculas quirales:** Polarimetría. <sup>(8,9)</sup>

### 4.2.3 Métodos electroquímicos.

- **Conductometría**
- **Potenciometría** (ionometría y titulación potenciométrica).
- **Voltamperometría y valoración amperométrica.**
- **Determinación potenciométrica de pH.** <sup>(8,9)</sup>

### 4.2.4 Métodos de análisis cromatográfico

Cromatografía de gases (CG). Cromatografía líquida: cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), cromatografía iónica. Cromatografía de fluidos supercríticos. <sup>(8,9)</sup>

#### 4.2.5 Otros métodos de análisis y validación de técnicas de análisis

- **Espectrometría de masas.** Combinación de espectrometría de masas con métodos cromatográficos.
- **Métodos de análisis térmico:** termogravimetría, análisis térmico diferencial, calorimetría diferencial de barrido.
- **Métodos de análisis inmunoquímico y receptor.**
- **Métodos biológicos de análisis.**
- **Validación de métodos analíticos utilizados en análisis farmacéutico.**
- **Análisis estadístico de los resultados de un experimento químico.** <sup>(8,9)</sup>

#### 4.3 Características de análisis de medicamentos según farmacopeas

Principio básico: Unificación y estandarización del mismo tipo de pruebas en determinado grupo de fármacos. Comprende:

**4.3.1 Preparación de soluciones de reactivos:** soluciones de referencia y tampón. Soluciones tituladas (soluciones estandarizadas) usadas para valoraciones volumétricas. Características de preparación y estandarización de la solución. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.2 Propiedades fisicoquímicas de las sustancias farmacéuticas:** estado de agregación, apariencia, color, estado cristalino, polimorfismo. Con relación a la solubilidad, los términos condicionales para la solubilidad. Propiedades ácido-base de las sustancias farmacéuticas. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.3 Constantes físicas de los medicamentos:** determinación del punto de fusión, temperatura de solidificación, punto de goteo, límites de temperatura de destilación y punto de ebullición. Determinación de la densidad y viscosidad de líquidos. Determinación de rotación específica e índice de refracción. Uso de constantes físicas para la identificación y definición de buena calidad de los medicamentos. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.4 Impurezas en los medicamentos:** su naturaleza y naturaleza de las sustancias extrañas en sustancias farmacéuticas (medicamentos). Efecto de las impurezas en la composición cualitativa y cuantitativa del fármaco y su actividad

farmacológica. Impurezas permitidas e inaceptables. Métodos generales y particulares para detectar impurezas.

Determinación del color de líquidos, transparencia y turbidez de líquidos. Determinación de sustancias volátiles y agua, pérdida de masa durante el secado, cenizas totales y cenizas sulfatadas. Identificación de solventes residuales y control de su cantidad. Determinación de la pureza microbiológica de sustancias farmacéuticas. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.5 Identificación de medicamentos.** Con la finalidad de identificar (autenticar) los medicamentos se utilizan los métodos de farmacopea, siendo necesaria una primera y segunda identificación. Se identifican con reacciones de autenticidad a iones y grupos funcionales. Son aplicables los métodos instrumentales para identificar las sustancias farmacéuticas, entre ellos, los métodos de identificación espectroscópica y métodos cromatográficos, que permiten reconocer la relación de la estructura química y las características espectrales de las drogas. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.6 Métodos de análisis cuantitativo de medicamentos.** Los requisitos para elegir un método para la determinación cuantitativa de una sustancia medicinal dependen de su estructura química y el objeto del análisis. <sup>(8,9)</sup>

**4.3.7 Análisis de farmacopea de productos terminados.** Por las características del análisis de fármacos multicomponentes hay criterios para elegir los métodos de identificación y cuantificación de medicamentos terminados. <sup>(8,9)</sup>

**4.4 Análisis de antimicóticos azólicos según farmacopeas y otros documentos oficiales.**

**4.4.1 Farmacopea Británica.** Establece que *clotrimazol* no disuelve con agua, pero sí con etanol, cloruro de metileno y cloroformo; además menciona que disuelve ligeramente con éter. Su cromatograma tiene lectura a 254 nm. Propone disolver cerca de 10 mg de sustancia en 3 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N.

El producto resultante presenta coloración amarillo claro. Cuando a 10 mg del preparado se adiciona 10 mg de HgO + 20 mg de NaNO<sub>2</sub>, y se agita de vez en

cuando el tubo, la solución resultante da color anaranjado, que luego vira a marrón anaranjado, lo que indica que *clotrimazol* se identifica por IR y cromatografía en papel.

Para *miconazol* menciona que disuelve poco con agua, pero disuelve fácilmente con metanol y etanol. Presenta *polimorfismo*. Se identifica por IR, cromatografía en papel y por su punto de fusión entre 85-87 °C. <sup>(10)</sup>

**4.4.2 Farmacopea Española.** Menciona que *ketoconazol* se disuelve bien con etanol, describe su identificación por cromatografía en capa fina y valoración en medio no acuoso. Especifica que *clotrimazol* tiende a ser un polvo de color blanco brillante a uno de color amarillo ténue, que no disuelve bien con agua, pero sí con etanol y cloruro de metileno. Señala que se identifica por IR y cromatografía en papel. Para *clotrimazol*, cita la reacción colorimétrica con óxido de mercurio (II) en medio ácido descrita por la Farmacopea Inglesa y explica su identificación por IR y cromatografía en papel. Respecto a *miconazol*, señala que se disuelve fácilmente con sulfóxido de dimetilo y dimetilformamida, ligeramente con metanol, poco con alcohol y agua, y casi nada con éter di etílico. <sup>(11)</sup>

**4.4.3 Farmacopea Americana USP-41/NF 36 2018.** Menciona que clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol se identifican por IR y cromatografía en papel. En cuanto a fluconazol; se disuelve en metanol hasta obtener una solución 5% (p/v) transparente e incolora. <sup>(12)</sup>

#### **4.4.4 Farmacopea Europea 9.0**

La Farmacopea Europea indica que clotrimazol es un polvo de color blanco brillante a amarillo tenue. Prácticamente no se disuelve con agua, pero sí con etanol (96%) y diclorometano. Su identificación se da por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo, punto de fusión (141 °C a 145 °C), y cromatografía en capa delgada. El solvente a utilizar es el etanol (96%), la fase móvil está compuesta de amoníaco concentrado, propanol y tolueno (0,5:10:90 V/V/V), y su detección se examina en luz ultravioleta a 254 nm. <sup>(13)</sup>

Fluconazol es una sustancia de color blanco brillante e higroscópica, se disuelve ligeramente con agua, y en su totalidad con metanol y acetona. Presenta polimorfismo. Se identifica por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo. <sup>(13)</sup>

Ketoconazol es una sustancia de color blanquecina, prácticamente no se disuelve con agua, pero sí con cloruro de metileno y metanol. Escasamente disuelve con etanol (96%). Se identifica por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo, punto de fusión (148 °C a 152 °C), cromatografía en capa delgada, y con reactivos de carbonato de sodio anhidro y ácido nítrico. La solución muestra se disuelve con fase móvil de acetato de amonio/ dioxano/ metanol (20:40:40 V/V/V), y su detección se examina con vapores de yodo hasta la aparición de manchas. <sup>(13)</sup>

Miconazol es una sustancia de color blanco, se disuelve ligeramente con agua, totalmente soluble con metanol y etanol (96%). Se identifica por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo, punto de fusión (83 °C a 87 °C), cromatografía en capa delgada, y con reactivos de carbonato de sodio anhidro y ácido nítrico. La fase móvil está compuesta de: acetato de amonio/ dioxano/ metanol (20:40:40 V/V/V), se detecta a la exposición con vapores de yodo hasta la aparición de manchas. <sup>(13)</sup>

#### 4.4.5 Análisis según OMS

La OMS periódicamente publica manuales con reacciones analíticas para identificar medicamentos y formas farmacéuticas, así tenemos: en el texto “Basic tests for pharmaceutical dosage forms” <sup>(8)</sup> para identificar *miconazol nitrato*, en donde se señalan los siguientes ensayos:

Punto de fusión: Cerca de 180 °C.

**Reacción A.** Disolver 20 mg en 2,0 mL de piridina, sacudir vigorosamente con 1,0 mL de NaOH 2N y calentar (en mechero de alcohol); la mezcla amarilla se torna rojo oscuro.

**Reacción B.** En una cápsula de porcelana calentar 0,05 g con 0,10 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidro. Enfriar, disolver el residuo en 3mL de HNO<sub>3</sub> 2N y adicionar gotas de

AgNO<sub>3</sub> 0,1N; se produce un precipitado blanco. El precipitado se separa y lava con agua destilada y se añade gotas de NH<sub>4</sub>OH 25%, el precipitado se disuelve.

**Reacción C.** A 0,05 g colocados en tubo de ensayo se adiciona 2,0 mL de NaOH 2N y agrega 20 mg de zinc en polvo y se hierve suavemente (en mechero de alcohol); se produce cambio de color del papel indicador de pH hacia el rango alcalino humedecido con el amoniaco liberado.

En el compendio "Clarke' Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceutical, body fluids and postmortem material" los fungicidas *miconazol nitrato*, *clotrimazol*, *ketoconazol* y *fluconazol* se identifican por cromatografía en capa fina, espectrofotometría UV e IR. <sup>(14)</sup>

#### **4.5 Medicamentos falsificados**

Según OMS la falsificación de medicamentos es un problema mundial multifacético que conlleva no solamente a un atentado contra la salud, también puede derivar en severas intoxicaciones y detrimento de órganos sanos, incluso el fallecimiento del usuario; es decir, la violación de sus derechos humanos. <sup>(15)</sup>

##### **4.5.1 Definición**

Es un producto farmacéutico resultante de manipulación indebida y fraudulenta, en donde se altera su identidad, afectando su calidad, seguridad y eficacia, provocando daños a sus consumidores. La falsificación afecta tanto a medicamentos comerciales como medicamentos genéricos. Existen muchas formas de falsificar un medicamento, que va desde alteraciones internas en su composición química hasta alteraciones externas en la presentación comercial. <sup>(15)</sup>

##### **4.5.2 Peligros involucrados**

- Fallas en el suministro de un tratamiento efectivo y oportuno. Esto ocurre cuando el medicamento falsificado contiene una cantidad insuficiente del ingrediente activo indicado en el empaque, o cuando los demás ingredientes que hacen posible la asimilación de la medicina por el paciente no operan debidamente, produciendo efectos que pueden variar desde un simple dolor de cabeza, hasta un grave y quizás fatal empeoramiento;



- Daños directos. En algunos casos, los medicamentos falsificados causan daños directos al paciente, ya que pueden contener sustancias tóxicas como un anti-congelante, pintura industrial, ceras, talco, tiza, etc.;
- Resistencia a las medicinas. En este sentido, al utilizar un medicamento falsificado que contiene una cantidad insuficiente o nula de la sustancia activa para combatir una enfermedad que fue provocada por algún virus, bacteria, o parásito, provoca que estos microorganismos se vuelvan resistentes a la enfermedad, y por lo tanto el medicamento genuino se hace también menos efectivo.
- Otras consecuencias. Adicionalmente, el mercado de las medicinas falsificadas contribuye a una disminución en la investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, puesto que al verse afectadas las ventas de los laboratorios, por tanto disminuye también la inversión para tales efectos.<sup>(16)</sup>

#### **4.5.3 Peligro mundial**

Pharmaceutical Security Institute (Instituto de Seguridad Farmacéutica, PSI por sus siglas en inglés) formada por treinta y tres laboratorios farmacéuticos de distintos países, es una organización sin fines de lucro dedicada a proteger la salud pública y diseminar información sobre falsificación de productos farmacéuticos. Según PSI, los medicamentos falsificados forman parte de amenazas contra la salud pública. La gama en estos productos se extiende desde medicamentos sin ingredientes farmacéuticos activos hasta los que contienen contaminantes tóxicos. Pueden ser copias de medicamentos con marca, genéricos o sin identificación.

Las actividades de los falsificadores de medicamentos prosperan en países donde las leyes contra la falsificación son débiles; las agencias de regulación de medicamentos carecen de fondos y de personal; y las sanciones legales son ineficaces.

Los productos falsificados aparecen con una gran cantidad de deficiencias. Por ejemplo, medicinas falsificadas han sido encontradas con menos o más cantidad requerida de IFA que se usa en la versión auténtica o contienen la cantidad

correcta de ingrediente activo pero han sido fabricados en condiciones insalubres y peligrosas. En otros casos los medicamentos originales se encuentran en envases falsificados para prolongar la fecha de vencimiento o para cometer un fraude contra varios programas gubernamentales.<sup>(17)</sup>

#### **4.5.4 Medicamentos falsificados en el Perú**

En el periodo 2005-2008 Moreno y colaboradores<sup>(18)</sup> determinaron que en el Perú el porcentaje de medicamentos falsificados con relación al total de medicamentos analizados fue de 3,0% en 2005, 5,0% en 2006, 7,3% en 2007 y 9,2% en 2008. Los principales grupos de medicamentos falsificados según la clasificación ATC de la OMS fueron: tracto alimentario y metabolismo, 34,5% (29,1%–39,8%); antiinfecciosos para uso sistémico, 21,1% (16,5%–25,7%); sistema nervioso, 17,1% (12,8%–21,3%); y sistema músculo esquelético, 15,4% (11,3%–19,5%). El 61,0% (56,0%–67,0%) de los medicamentos falsificados fueron nacionales y 39,0% (33,0%–44,0%), importados. Las formas farmacéuticas con mayores tasas de falsificación incluyeron comprimidos, 66,0% (60,0%–71,0%), inyectables, 19,0% (14,0%–23,0%) y cápsulas, 7,0% (4,0%–10,0%).

De acuerdo al consolidado de las evaluaciones de alertas DIGEMID realizadas por Medina y colaboradores<sup>(19)</sup>, respecto a la falsificación de medicamentos en el periodo 1997-2014, se emitieron un total de 669 alertas, de las cuales, 354 (52,91%) se refirieron a 1738 casos de medicamentos falsificados (muchas alertas trataron varios casos a la vez). 1010 casos (58,11%) involucraron establecimientos farmacéuticos y 349 (20,08%) comprometieron locales comerciales no farmacéuticos. En 126 casos (7,25%), los medicamentos falsificados fueron incautados en locales sin ninguna autorización de comercialización; en 253 casos (14,56%) el tipo de establecimiento o negocio asociado al producto incautado no fue identificado. Medina concluye que los medicamentos falsificados son un grave problema para la salud pública en el Perú. Asimismo, señala que el problema es claramente estructural ya que la mayoría de los casos (58,11% del total) fueron detectados en cadenas de suministro legítimas. La mayoría de las falsificaciones de medicamentos implicaron productos farmacéuticos básicos y formas de dosificación comunes.

## 4.6 Compuestos de Coordinación y fármacos

### 4.6.1 Fundamento para la formación de compuestos de coordinación (complejos)

Se forman con un átomo central receptor de pares de electrones de átomos y moléculas circundantes (dentro de la esfera interna del complejo), según IUPAC, un elemento de transición posee un subnivel “*d*” incompleto, o bien es aquel que puede dar lugar a uno o varios cationes con subnivel “*d*” incompleto. Así tenemos la distribución de electrones para algunos elementos de transición: Cromo,  $\text{Cr} = [\text{Ar}] 3d^5 4s^1$ ;  $\text{Mn} = [\text{Ar}] 3d^5 4s^2$ ;  $\text{Fe} = [\text{Ar}] 3d^6 4s^2$ ;  $\text{Co} = [\text{Ar}] 3d^7 4s^2$ ;  $\text{Ni} = [\text{Ar}] 3d^8 4s^2$ , es decir, con los pares de electrones que aportan los ligandos (enlace dativo), se va completando el subnivel “*d*” del elemento de transición que participa como átomo central en el complejo o compuesto de coordinación, por ejemplo, hexacianoferrato (III) de potasio (Figura 4).

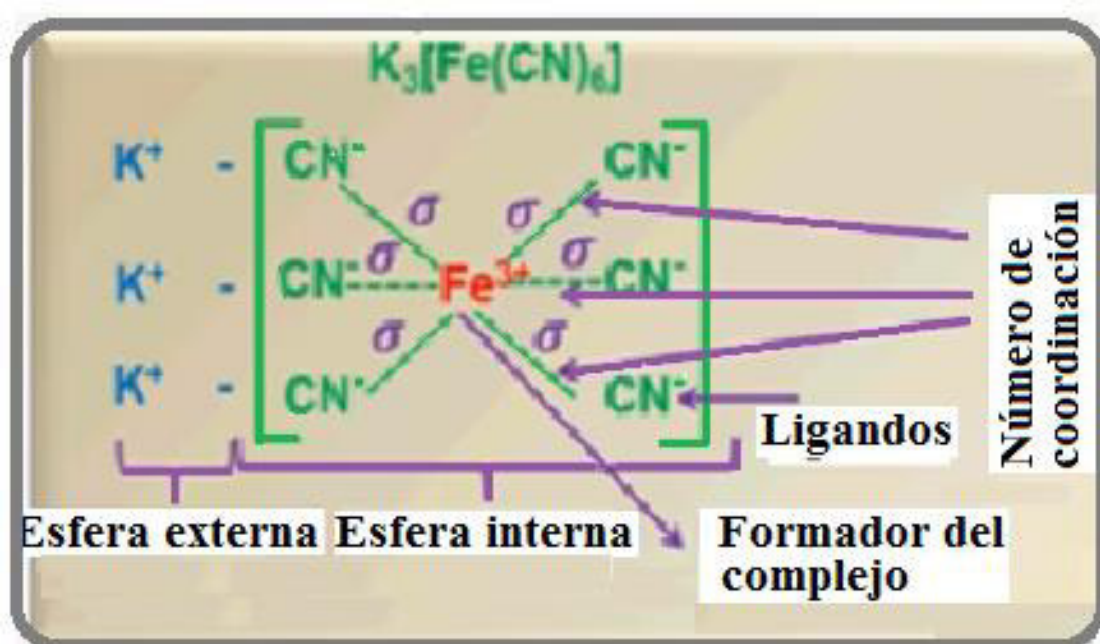


Figura 4. Representación esquemática de un compuesto de coordinación de Hexacianoferrato (III) de potasio. Fuente: Elaboración propia.

#### 4.6.2 Formación de compuestos de coordinación con átomo central metálico y fármacos como ligandos

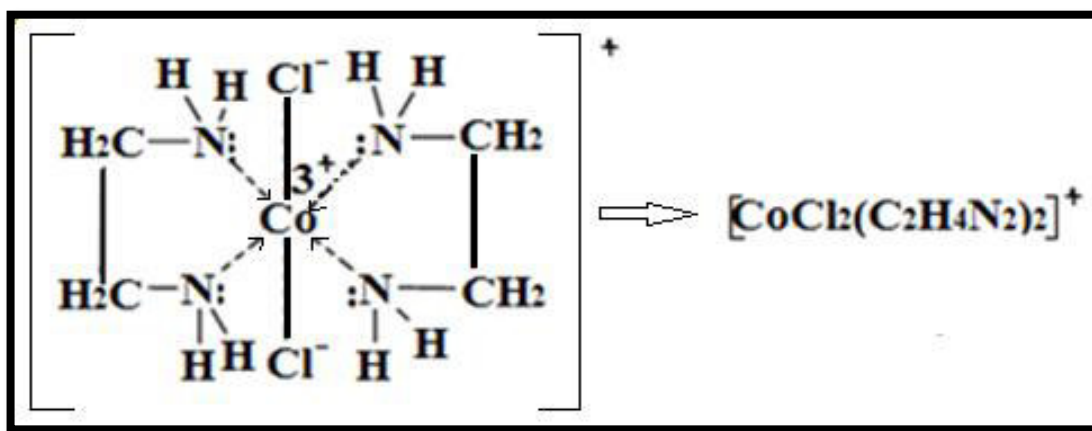


Figura 5. Representación esquemática de ión complejo formado por el átomo central cobalto (III) y dos moléculas de etilendiamina como ligandos.

Fuente: Revista Canadiense de Microbiología <sup>(20)</sup>

En la Figura 5 se representa dos moléculas de etilendiamina en coordinación con el átomo central cobalto (III), donde las líneas punteadas representan el enlace dativo de los pares de electrones de cada uno de los nitrógenos, que por atracción electrostática ocupan los orbitales semivacíos “*d*” del átomo de cobalto; asimismo, las dos líneas restantes representan la atracción —con cierto carácter iónico—, entre los dos átomos de cloro —con carga negativa— y el catión cobalto (III). Finalmente, por el carácter no iónico de las moléculas de etilendiamina (valencia cero), como producto resultante se obtiene un catión monovalente limitado entre corchetes, ***predispuesto a combinarse con algún anión mono o poliatómico*** <sup>(20)</sup>.

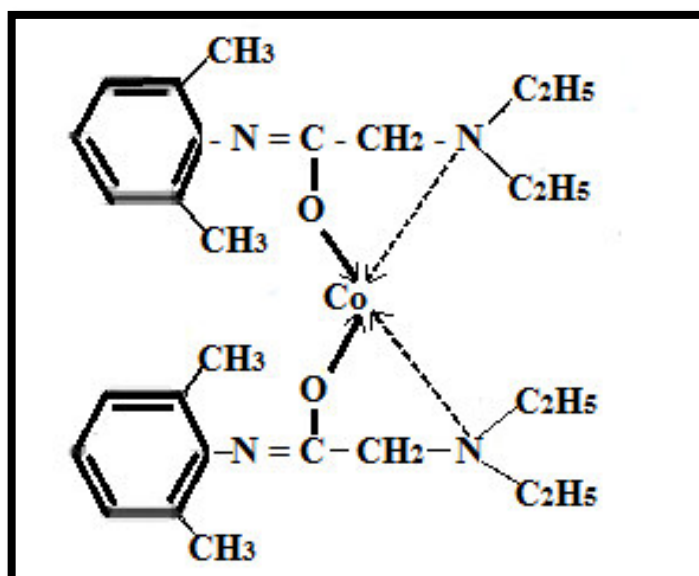


Figura 6. Representación esquemática de un complejo formado por reacción de lidocaína con nitrato de cobalto.

Fuente: Editorial de Medicina de Moscú <sup>(21)</sup>

En la Figura 6, dos moléculas de lidocaína están ligadas a un átomo de cobalto (II), las líneas punteadas representan el tránsito de los pares de electrones – enlace dativo-, de los átomos de nitrógeno hacia los orbitales semivacíos “*d*” del átomo de cobalto y las dos líneas continuas representan la entrega de los pares de electrones del átomo de oxígeno hacia los orbitales externos del átomo de cobalto <sup>(21)</sup>.

Igualmente, se ha estudiado las propiedades antimicrobianas de los complejos formados por metales divalentes Co, Ni, Cu y Zn combinados con ligandos de moléculas de cefalexina y nicotinamida <sup>(22)</sup>. Figura 7.

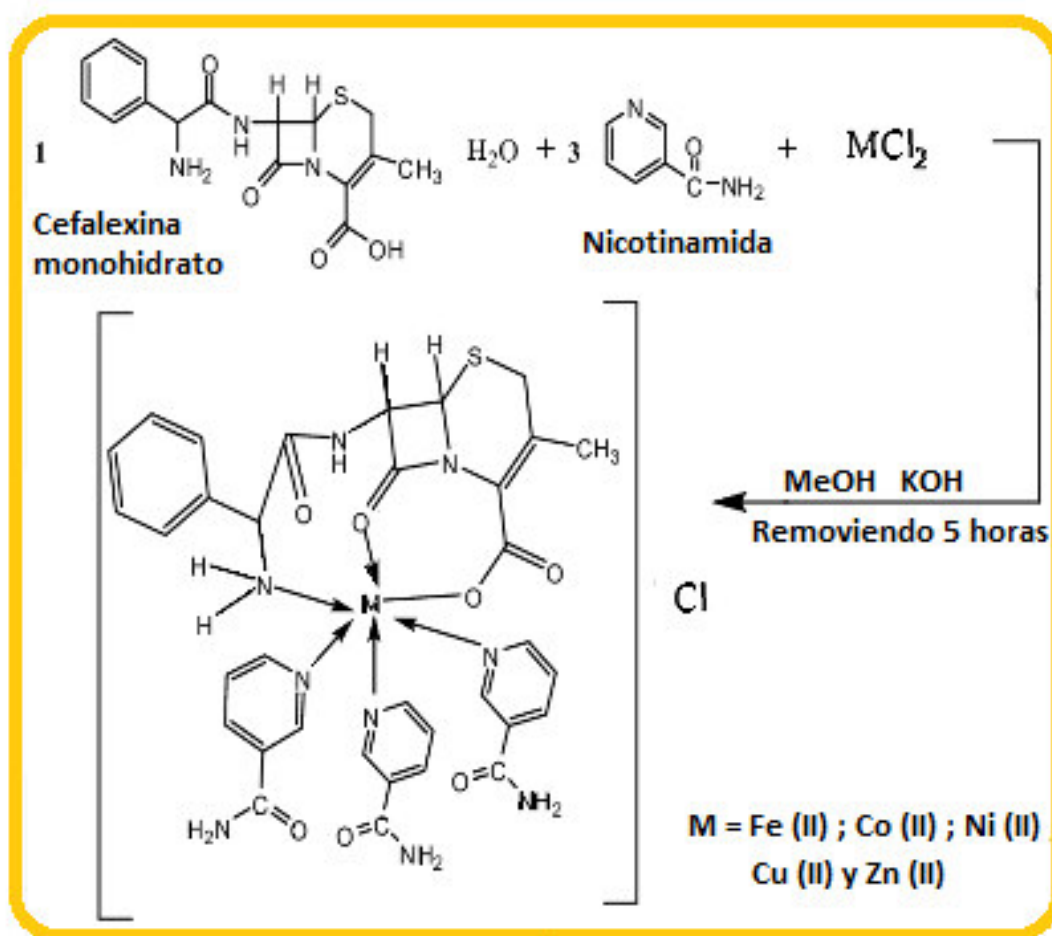


Figura 7. Diagrama esquemático que representa la síntesis del complejo  $[\text{M}(\text{Ceph})(\text{NA})_3]\text{Cl}$ .

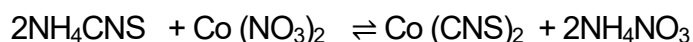
Fuente: Publicación Académica Lambert <sup>(22)</sup>

#### 4.6.2.1 Formación de compuestos de coordinación con fungicidas azólicos

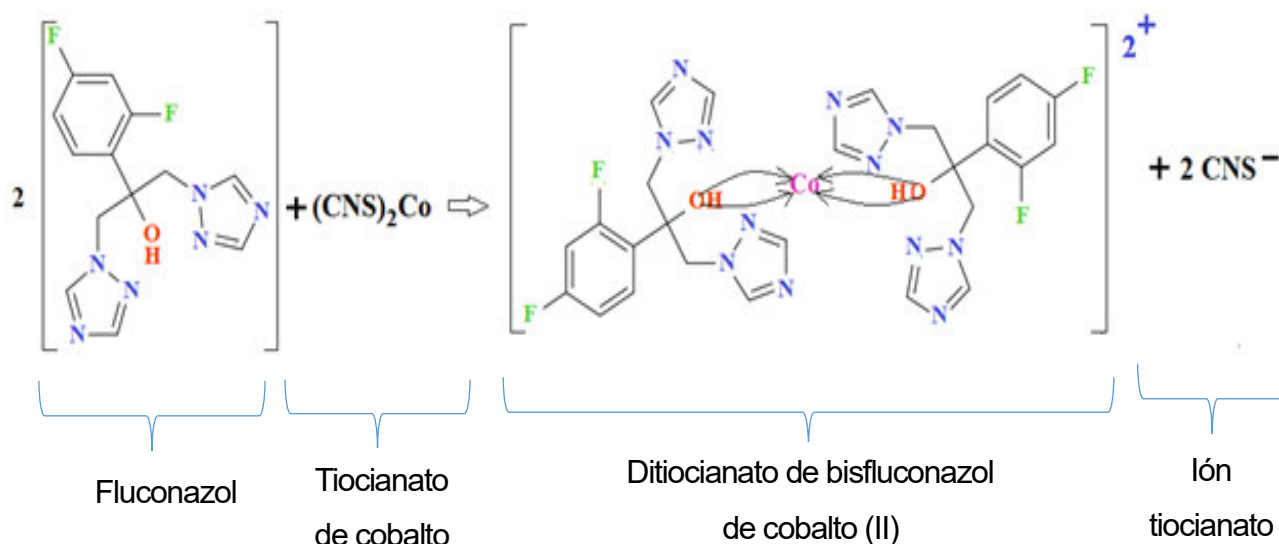
Para representar los complejos metálicos con fungicidas azólicos como clotrimazol y fluconazol, se propone los siguientes esquemas:

1.- Reacción reversible en equilibrio, con formación de tiocianato de cobalto (II).

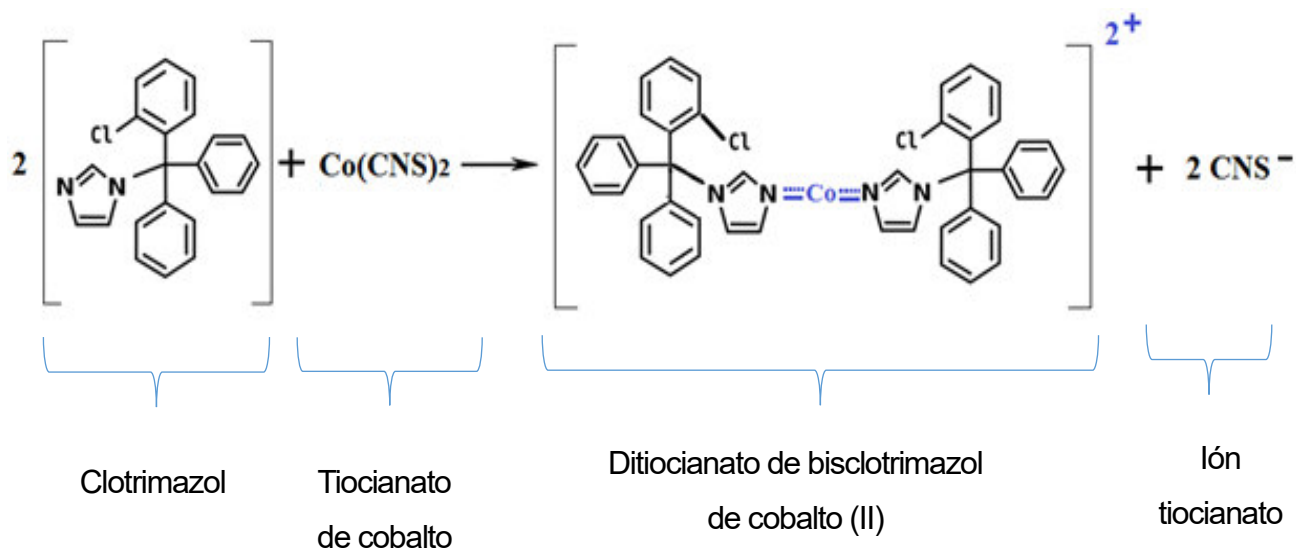
Fuente: Elaboración propia.



2.- Formación de ditiocianato de bisfluconazol de cobalto (II). Fuente: Elaboración propia.



3.- Formación de ditiocianato bisclotrimazol de cobalto (II). Fuente: Elaboración propia.



## 5. METODOLOGÍA

La presente investigación se realizó con soluciones alcohólicas, en concentración de 6 mg/mL, de estándares secundarios, medicamentos genéricos y medicamentos de marca para clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol (excepto este último que sólo se investigó con estándar secundario), y con la adición de reactivos seleccionados previamente para la evaluación de reacciones colorimétricas y formación de microcristales. <sup>(14, 23)</sup> Estos reactivos están conformados por: cloruro de cobalto 0,5N acuoso, cloruro de cobalto 0,5N alcohólico, complejo de tiocianato de níquel, complejo de tiocianato de zinc, complejo de tiocianato de cobalto, complejo de tiocianato ferroso, y cloruro de hierro (III) alcohólico. Dicha investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Inorgánica, perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### 5.1 Factores en estudio

Para elección del solvente a utilizar, previamente se realizaron ensayos de solubilidad con los estándares secundarios, acorde a farmacopea, siendo elegido el etanol al 96%, ya que se observó solubilización total para clotrimazol, fluconazol y ketoconazol, y solubilización parcial para miconazol. Además, el etanol al 96% es más asequible y accesible que otros solventes.

En todos los casos las soluciones se filtraron para obtener soluciones transparentes, excepto con miconazol, con el cual no se obtuvo solución transparente; sin embargo, esta solución permitió obtener resultados positivos con algunos reactivos.

Inicialmente las soluciones alcohólicas se prepararon a dos concentraciones: 2 mg/mL y 6 mg/mL, pero al realizar ensayos preliminares se comprobó mejores resultados con la de mayor concentración, por lo que se optó por la de concentración 6 mg/mL.

Todas las soluciones obtenidas se guardaron en frascos de vidrio color ámbar cerrados herméticamente.



## 5.2 Diseño experimental

Las condiciones en las que se realizó el presente trabajo de investigación fueron las mismas para todas las reacciones químicas tratadas.

### 5.2.1 Muestras:

- Estándares secundarios de clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol. Proporcionados por MEDIFARMA S.A.
- Medicamentos de diferentes presentaciones comerciales con ingredientes farmacéuticos activos de clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol, tanto en genérico como de marca.



Figura 8. Fotografías de muestras analizadas y estándares secundarios.

Fuente: Elaboración propia.

### 5.2.2 Materiales de laboratorio:

- Tubos con dimensiones de 20x40 y 20x60 con tapas
- Pipetas
- Beakers
- Embudos
- Frascos goteros color ámbar
- Mecheros de alcohol
- Baguetas

- Papel de filtro whatman
- Placas de toques de porcelana
- Pro pipetas
- Morteros
- Microscopios

### **5.2.3 Reactivos:**

- Etanol 96°
- Complejo de tiocianato de níquel
- Complejo de tiocianato de zinc
- Complejo de tiocianato de cobalto (II)
- Solución de  $\text{CoCl}_2$  0,5N en medio acuoso
- Solución de  $\text{CoCl}_2$  0,5N en medio alcohólico
- Complejo de tiocianato ferroso
- Cloruro de hierro (III) alcohólico

## **5.3 Preparación de muestras**

### **5.3.1 Preparación de solución alcohólica de 6 mg/mL de medicamento genérico y de marca, los cuales contienen el IFA de clotrimazol (Clotrimazol 500 mg tableta vaginal como medicamento genérico y Clotrival® 1% solución tópica como medicamento de marca)**

Para el medicamento genérico se pulverizó una tableta vaginal de clotrimazol 500 mg en un mortero, y todo el contenido se disolvió en 83,3 mL de etanol 96° en beaker de 100 mL, se agitó para obtener la solución deseada. Dicha solución se filtró y se conservó en recipiente de color ámbar cerrado herméticamente.

Para el medicamento de marca Clotrival® 1% solución tópica, se vertió 6 mL de este medicamento en 1 mL de etanol 96° dentro de un vaso pequeño de precipitados.

Las diferentes soluciones obtenidas se filtraron y guardaron en frascos de vidrio color ámbar cerrados herméticamente.

### **5.3.2 Preparación de solución alcohólica 6 mg/mL de medicamento genérico y de marca con IFA de fluconazol (Fluconazol 150 mg cápsulas como medicamento genérico y Felusol® 150mg cápsula como medicamento de marca).**

Para el medicamento genérico, se tomó todo el contenido de dos cápsulas de fluconazol 150 mg y se disolvió en 60 mL de etanol al 96° en beaker de 100 mL. Luego para disolver completamente el soluto se precisó de una bagueta.

Para el medicamento de marca denominado Felusol® 150 mg cápsula, se procedió de la misma manera que la anterior a la de su medicamento genérico.

Las diferentes soluciones obtenidas se filtraron y guardaron en frascos de vidrio color ámbar cerrados herméticamente.

### **5.3.3 Preparación de soluciones alcohólicas 6 mg/mL de muestras de ketoconazol en medicamento genérico (ketoconazol 200 mg tableta) y de marca Linzol® 200 mg tableta.**

Para ambos medicamentos, se tomó una tableta de cada presentación y se disolvió por separado en 33,33mL de etanol 96%. Se agitó hasta completa disolución (para tener la solución deseada) y se filtró, obteniéndose soluciones transparentes, las cuales se conservaron en recipientes de vidrio color ámbar y se cerraron herméticamente.

## **5.4. Identificación de antibióticos fungicidas**

### **5.4.1 Técnica de ensayo a la gota**

En la primera columna de una placa de toques con cuatro hoyuelos, se colocó dos gotas de la solución alcohólica estándar del fungicida elegido, en la segunda columna, también con cuatro hoyuelos, se colocó dos gotas de la solución alcohólica de su presentación en genérico y en la tercera columna —con cuatro hoyuelos— dos gotas de su presentación en marca.

Luego en cada una de las cuatro filas se añadió dos gotas de los reactivos listados en el punto 3.2.

#### **5.4.2 Reacciones en tubos de ensayo**

Se prepararon 7 series de 4 tubos, cada serie con 4 mL de una de las soluciones alcohólicas estandarizadas a 6 mg/mL, tanto de clotrimazol, fluconazol, ketoconazol y miconazol. Luego, a cada tubo de la primera serie se adicionó 4 gotas de solución acuosa de  $\text{CoCl}_2$  0,5N (reactivo 1), a los tubos de la segunda serie se agregaron 4 gotas de solución alcohólica de  $\text{CoCl}_2$  (reactivo 2), a los tubos de la tercera serie se añadieron 4 gotas de solución del complejo tiocianato de níquel (reactivo 3), a los tubos de la cuarta serie se adicionaron 4 gotas del complejo de tiocianato de zinc (reactivo 4), en la quinta serie a cada tubo se agregaron 4 gotas del complejo de tiocianato de cobalto II (reactivo 5), en la sexta serie se agregaron 4 gotas del complejo tiocianato ferroso (reactivo 6), y en la última serie se añadieron 4 gotas de cloruro de hierro III alcohólico (reactivo 7).

#### **5.4.3 Observación de microcristales**

Para la observación de los microcristales se separaron las reacciones positivas con formación de precipitados y presencia de microcristales, los cuales fueron filtrados, y colocados en placas Petri para su observación en microscopio óptico a 40X.

#### 5.4.4 Flujograma de análisis para la identificación secuencial de antibióticos fungicidas mediante reacciones colorimétricas y de microcristales

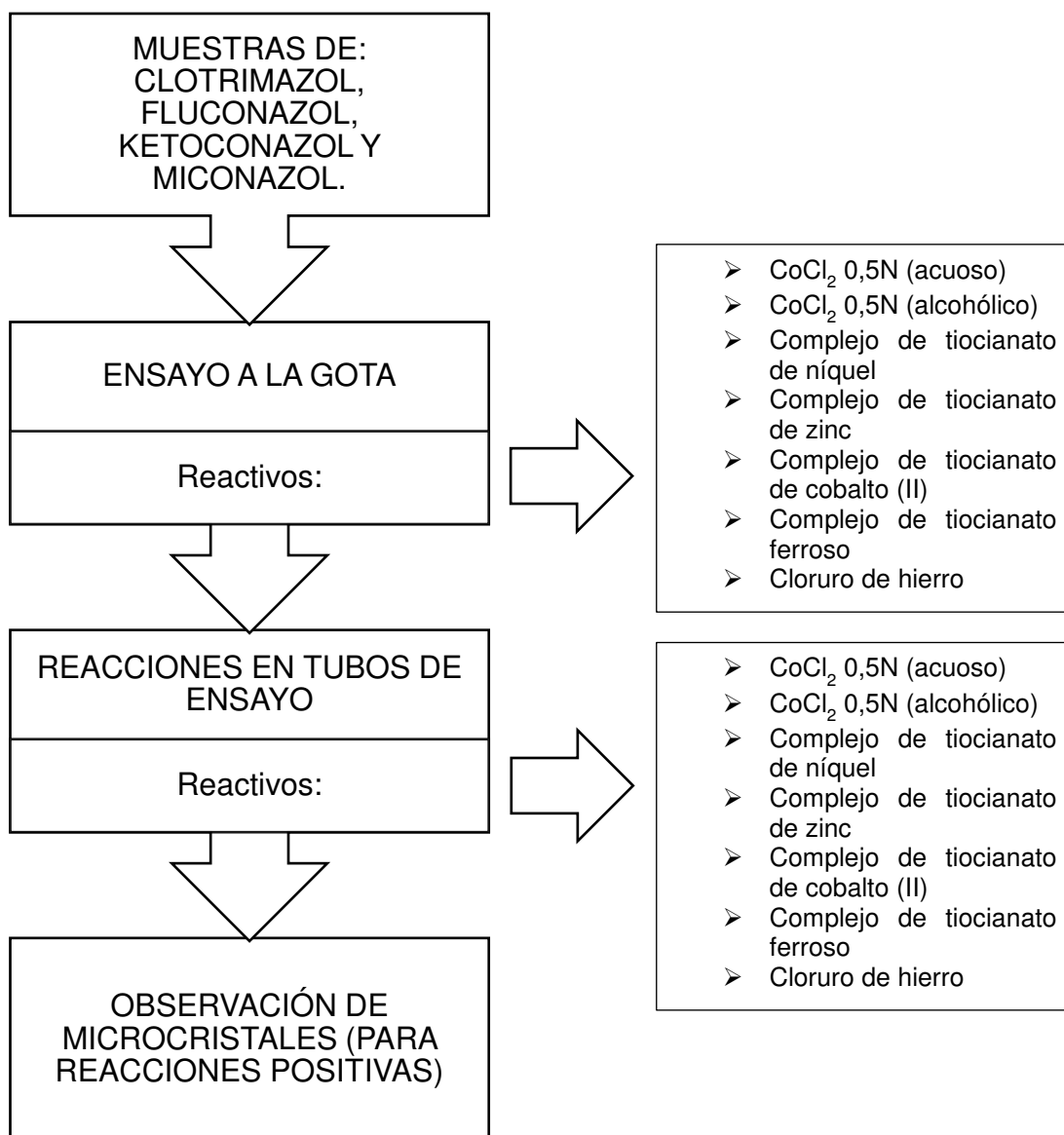


Figura 9. Representación esquemática de identificación de fungicidas azólicos.

Fuente: Elaboración propia.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. ENSAYO A LA GOTA

Los resultados obtenidos en las reacciones químicas del ensayo a gota con los reactivos seleccionados y las muestras de medicamentos con IFAs de clotrimazol (estándar secundario, genérico: Clotrimazol 500 mg tableta vaginal y marca: Clotrival<sup>®</sup> 1% solución tópica), fluconazol (estándar secundario, genérico: Fluconazol 150 mg cápsula y marca: Felusol<sup>®</sup> 150 mg cápsula), ketoconazol (estándar secundario, genérico: ketoconazol 200 mg tableta y marca: Linzol<sup>®</sup> 200 mg tableta) y miconazol, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 1. Reacción a la gota con muestras de clotrimazol. Fuente: Elaboración propia.

<div> <div>MUESTRAS</div> <div>REACTIVOS</div> </div>	SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE CLOTRIMAZOL 6 mg/mL		
	ESTÁNDAR	GENÉRICO	MARCA
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Sedimento rosado-lila claro	Sedimento rosado-lila claro	Coloración rosado-lila claro
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Coloración blanca sin sedimento	Coloración blanco sin disolución	Coloración blanco sin disolución
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Sedimento azul (coloración del reactivo)	Sedimento azul (coloración del reactivo)	Sedimento azul (coloración del reactivo)
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Sedimento naranja-amarillo	Sedimento naranja-amarillo	Sedimento naranja-amarillo

Tabla 2. Reacción a la gota con muestras de fluconazol. Fuente: Elaboración propia.

<div> <div>MUESTRAS</div> <div>REACTIVOS</div> </div>	SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE FLUCONAZOL 6 mg/mL		
	ESTÁNDAR SECUNDARIO	GENÉRICO	MARCA
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N</b> (acuoso)	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N</b> (alcohólico)	Sedimento lila claro	Sedimento lila claro	Sedimento lila claro
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Sedimento blanco	Sedimento blanco	Sedimento blanco
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Sedimento azul (color del reactivo)	Sedimento azul (color del reactivo)	Sedimento azul (color del reactivo)
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Sedimento naranja-amarillo	Sedimento naranja-amarillo	Sedimento naranja-amarillo

Tabla 3. Reacción a la gota con muestras de ketoconazol. Fuente: Elaboración propia.

<div> <div>MUESTRAS</div> <div>REACTIVOS</div> </div>	SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE KETOCONAZOL 6 mg/mL		
	ESTÁNDAR SECUNDARIO	GENÉRICO	MARCA
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Sedimento rosado-lila claro	Sedimento rosado-lila claro	Sedimento rosado-lila claro
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro	Sedimento rosado claro
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro	Opalescencia verde claro
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Sedimento blanco	Sedimento blanco	Sedimento blanco
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Sedimento azul (color reactivo)	Sedimento azul (color reactivo)	Sedimento azul (color reactivo)
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón	Sedimento vino-marrón
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Sedimento naranja	Sedimento naranja	Sedimento naranja



Tabla 4. Reacción a la gota con muestra de miconazol. Fuente: Elaboración propia.

<b>MUESTRA</b> <b>REACTIVOS</b>	<b>SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE ESTÁNDAR SECUNDARIO</b> <b>DE MICONAZOL 6 mg/mL</b>
<b>Complejo de</b> <b>tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde claro (color reactivo)
<b>Complejo de</b> <b>tiocianato de cobalto</b> <b>(II)</b>	Sedimento azul (color reactivo)

Las muestras de miconazol de medicamentos genéricos y de marca no dieron resultados.

## 6.2. REACCIÓN EN TUBO DE ENSAYO

Los resultados obtenidos en las reacciones químicas en tubos de ensayos entre los reactivos seleccionados y las muestras en soluciones alcohólicas a concentración 6 mg/mL de medicamentos con IFAs de clotrimazol (estándar secundario, genérico: Clotrimazol 500 mg tableta vaginal y marca: Clotrival® 1% solución tópica), fluconazol (estándar secundario, genérico: Fluconazol 150 mg cápsula y marca: Felusol® 150 mg cápsula), ketoconazol (estándar secundario, genérico: ketoconazol 200 mg tableta y marca: Linzol® 200 mg tableta) y miconazol, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 5. Reacción en tubo con muestras de clotrimazol. Fuente: Elaboración propia.

MUESTRAS REACTIVOS	SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE CLOTRIMAZOL 6 mg/mL		
	ESTÁNDAR SECUNDARIO	GENÉRICO	MARCA
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Color violáceo transparente, cristales rosados	Color violáceo transparente, cristales rosados	Color violáceo transparente, cristales rosados
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Color azul violáceo transparente (cristales azules)	Color azul violáceo transparente (cristales azules)	Color azul violáceo transparente (cristales rosado pálido azulado)
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde agua pálido	Opalescencia verde agua pálido	Opalescencia verde agua pálido
<b>Complejo tiocianato de zinc</b>	Opalescencia blanquecina	Opalescencia blanquecina	Opalescencia blanquecina
<b>Complejo de tiocianato</b>	Coloración azul con precipitado azul (cristales rosados)	Coloración azul con precipitado azul (cristales rosados coral) luego de 24	Coloración azul con precipitado azul (cristales rosados)

<b>de cobalto (II)</b>	coral) luego de 24 horas	horas	coral) luego de 24 horas
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Coloración vino con precipitado luego de 24 horas	Coloración vino con precipitado luego de 24 horas	Coloración vino con precipitado luego de 24 horas
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Coloración naranja con precipitado luego de 24 horas	Coloración naranja amarillo con precipitado luego de 24 horas	Coloración naranja amarillo con precipitado luego de 24 horas

Tabla 6. Reacción en tubo con muestras de fluconazol. Fuente: Elaboración propia.

<div> <div>MUESTRAS</div> <div>REACTIVOS</div> </div>	SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE FLUCONAZOL 6 mg/mL		
	ESTÁNDAR SECUNDARIO	GENÉRICO	MARCA
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Coloración rosado claro con cristales naranja rosa luego de 24 horas	Coloración rosado claro con cristales naranja rosa luego de 24 horas	Coloración rosado claro con cristales naranja rosa luego de 24 horas
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Coloración rosado tenue con presencia de cristales rosados luego de 24 horas	Coloración rosado tenue con presencia de cristales rosados luego de 24 horas	Coloración rosado tenue con presencia de cristales rosados luego de 24 horas
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Coloración verde agua pálido	Coloración verde agua pálido	Coloración verde agua pálido
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Sedimento blanco celeste	Sedimento blanco celeste	Sedimento blanco celeste
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Coloración azul con precipitado (cristales naranjas) luego de 24 horas	Coloración azul con precipitado (cristales naranjas) luego de 24 horas	Coloración azul con precipitado (cristales naranjas) luego de 24 horas
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Coloración vino con sedimento luego de 24 horas	Coloración vino con sedimento luego de 24 horas	Coloración vino con sedimento luego de 24 horas
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Coloración naranja amarillo con sedimento luego de 24 horas	Coloración naranja amarillo con sedimento luego de 24 horas	Coloración naranja amarillo con sedimento luego de 24 horas

Tabla 7. Reacción en tubo con muestras de ketoconazol. Fuente: Elaboración propia.

<b>SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE KETOCONAZOL 6 mg/mL</b>			
<b>MUESTRAS</b> <b>REACTIVOS</b>	<b>ESTÁNDAR SECUNDARIO</b>	<b>GENÉRICO</b>	<b>MARCA</b>
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Coloración azul tenue transparente	Coloración azul tenue transparente	Coloración azul tenue transparente
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Coloración azul transparente con cristales	Coloración azul transparente con cristales	Coloración azul transparente con cristales
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Opalescencia verde esmeralda	Opalescencia verde esmeralda	Opalescencia verde esmeralda
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Opalescencia blanquecina	Opalescencia blanquecina	Opalescencia blanquecina
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Coloración azul con formación de cristales azules luego de 24 horas	Coloración azul con formación de cristales azules luego de 24 horas	Coloración azul con formación de cristales azules luego de 24 horas
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Coloración vino oscuro con formación de precipitado luego de 24 horas	Coloración vino oscuro con formación de precipitado luego de 24 horas	Coloración vino oscuro con formación de precipitado luego de 24 horas
<b>Cloruro hierro (III) alcohólico</b>	Coloración amarillo naranja translúcido con formación de sedimento naranja luego de 24 horas	Coloración amarillo naranja translúcido con formación de sedimento naranja luego de 24 horas	Coloración amarillo naranja translúcido con formación de sedimento naranja luego de 24 horas

Tabla 8. Reacción en tubo con muestra de miconazol. Fuente: Elaboración propia.

<div> <div>MUESTRA</div> <div>REACTIVOS</div> </div>	<b>SOLUCIÓN ALCOHÓLICA DE ESTÁNDAR SECUNDARIO DE MICONAZOL 6 mg/mL</b>
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (acuoso)</b>	Coloración rosado tenue transparente
<b>CoCl<sub>2</sub> 0,5N (alcohólico)</b>	Coloración rosado tenue transparente
<b>Complejo de tiocianato de níquel</b>	Coloración verde agua pálido
<b>Complejo de tiocianato de zinc</b>	Opalescencia blanquecina tenue
<b>Complejo de tiocianato de cobalto (II)</b>	Coloración azul oscuro
<b>Complejo de tiocianato ferroso</b>	Opalescencia marrón claro (luego de 24 horas vira a rojo granate)
<b>Cloruro de hierro (III) alcohólico</b>	Coloración naranja amarillo caramelo

Las muestras de miconazol de medicamentos genéricos y de marca no dieron resultados.

### 6.3 OBTENCIÓN DE MICROCRISTALES

Los microcristales se obtuvieron de las reacciones químicas en tubos de ensayos — herméticamente cerrados y al abrigo de la luz por 24 horas—, entre los reactivos de cloruro de cobalto (II) —acuoso y alcohólico—, complejo de tiocianato de cobalto (II), y muestras de medicamentos con IFAs de clotrimazol (estándar secundario, genérico: Clotrimazol 500 mg tableta vaginal y marca: Clotrival<sup>®</sup> 1% solución tópica), fluconazol (estándar secundario, genérico: Fluconazol 150 mg cápsula y marca: Felusol<sup>®</sup> 150 mg cápsula) y ketoconazol (estándar secundario, genérico: ketoconazol 200 mg tableta y marca: Linzol<sup>®</sup> 200 mg tableta).

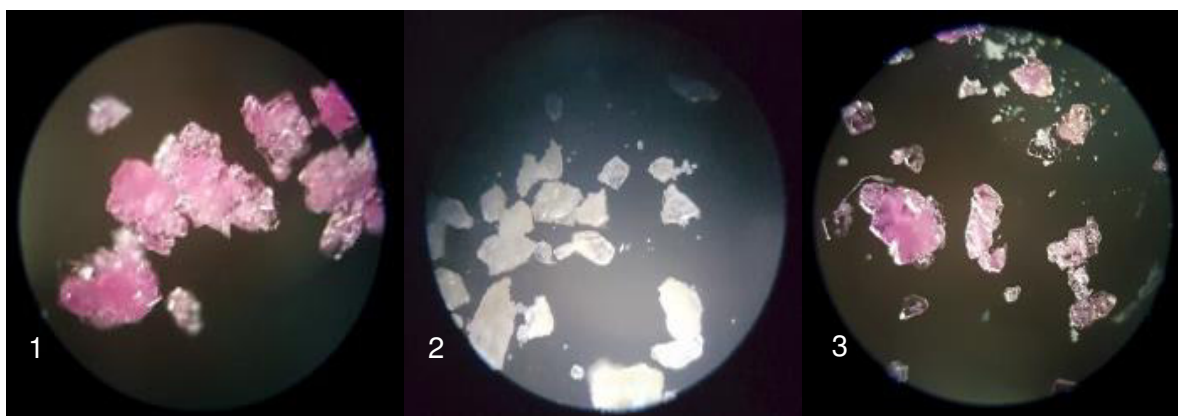


Figura 10. Microcristales irregulares de color rosado en forma de abanico y hexagonales de clotrimazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) acuoso, observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.



Figura 11. Microcristales monoclónicos de color rosado claro transparentes con bordes irregulares de fluconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) acuoso, observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

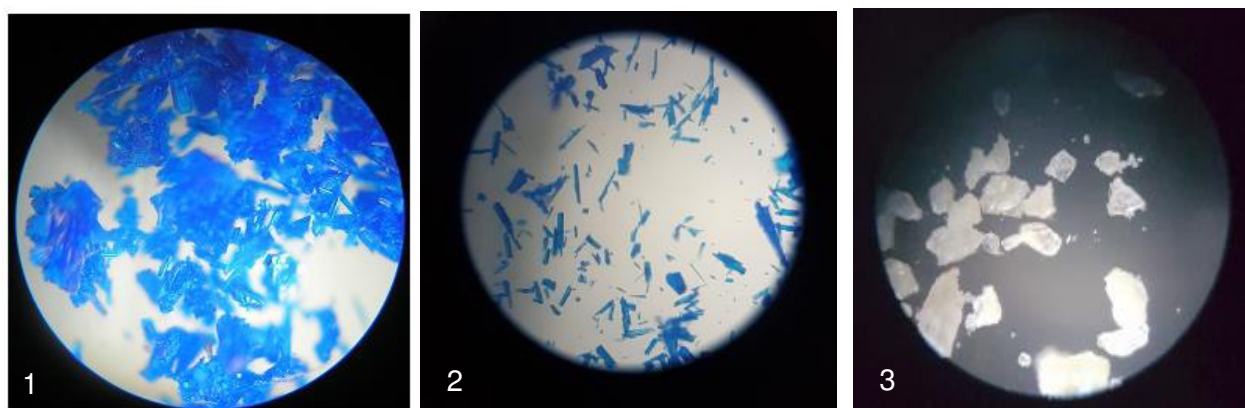


Figura 12. Microcristales puntiagudos de color azul de clotrimazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.



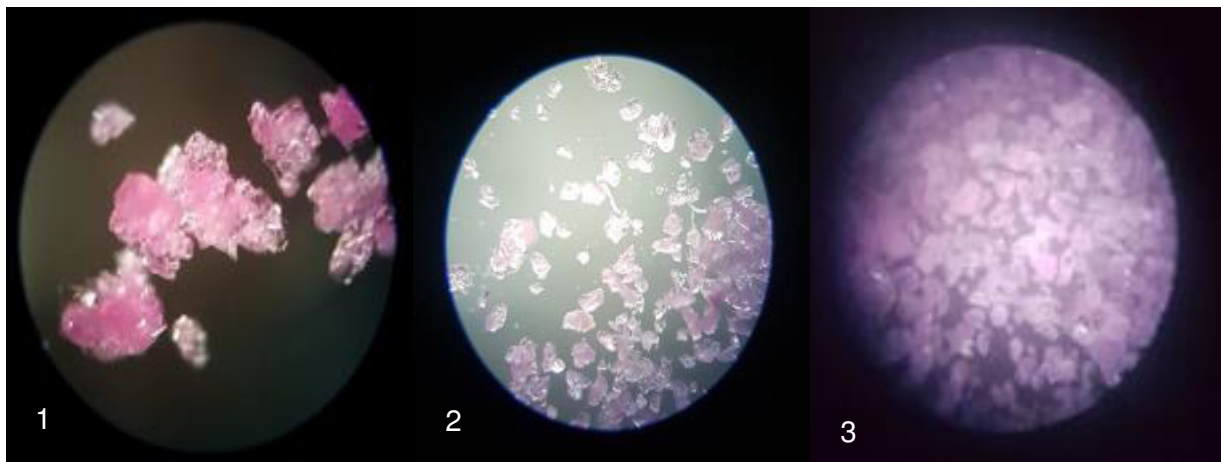


Figura 13. Microcristales monoclónicos de color rosado claro transparentes con bordes irregulares de fluconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

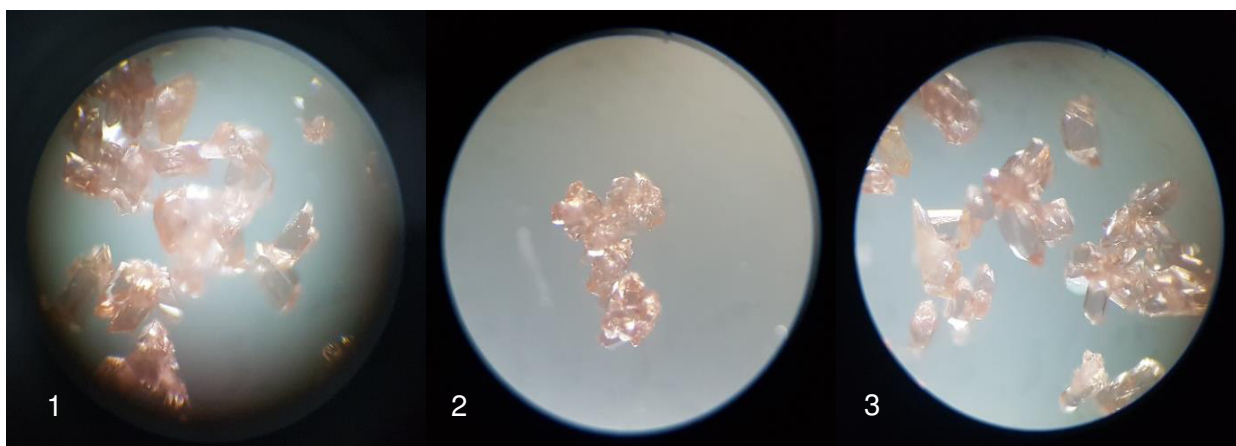


Figura 14. Microcristales hexagonales irregulares de color rosado coral de clotrimazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

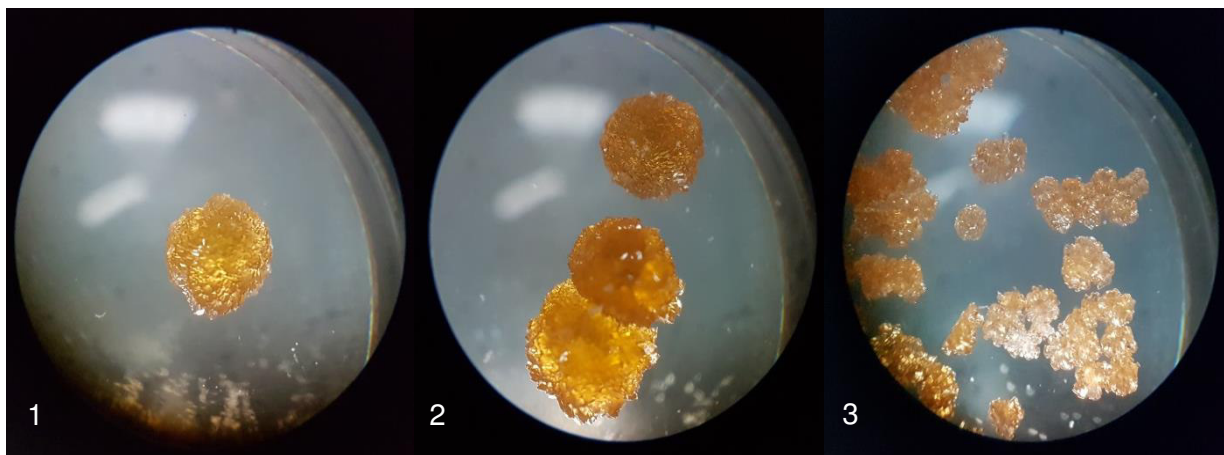


Figura 15. Microcristales esferoidales irregulares de color naranja de fluconazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

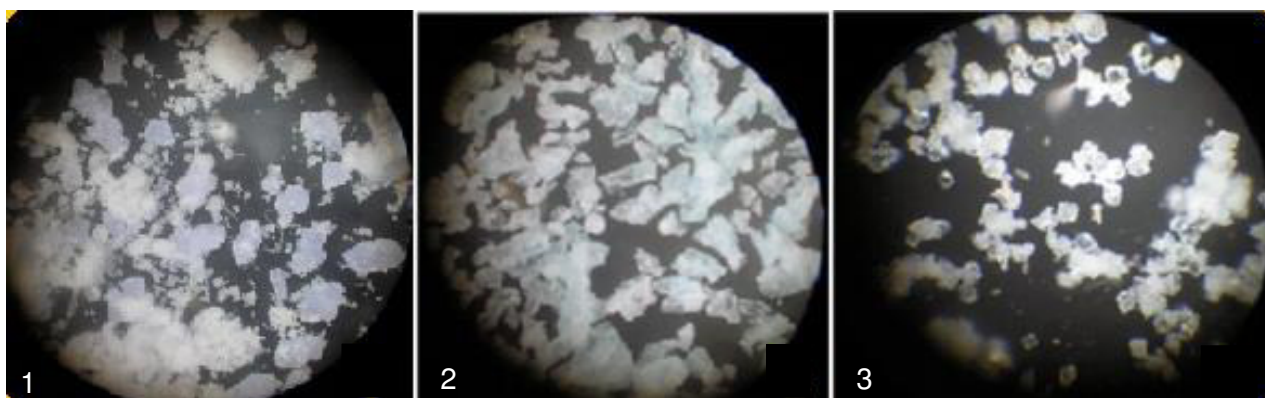


Figura 16a. Microcristales asimétricos de color azul tenue verdoso claro de ketoconazol obtenidos con el reactivo de cloruro de cobalto (II) alcohólico, observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

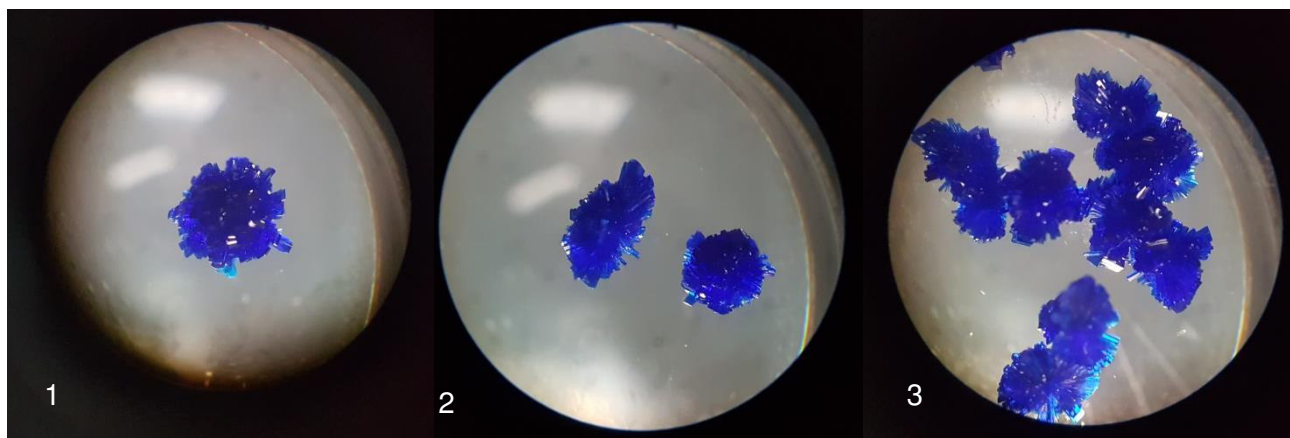


Figura 16.b. Microcristales poliédricos de forma esferoidal puntiagudos con bordes irregulares de color azul intenso de ketoconazol obtenidos con el reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II), observados al microscopio óptico a 40X, tanto para muestras con estándar secundario (1), genérico (2), y marca (3).

Fuente: Elaboración propia.

## 7. DISCUSIÓN

En la primera etapa denominada como “Ensayo a la Gota”, tres muestras con IFAs de clotrimazol y fluconazol —tanto en estándar secundario, medicamento genérico y producto de marca, seleccionados aleatoriamente, y en su estado comercial—, reaccionadas con gotas de reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N acuoso, cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica, y complejos de tiocianato de níquel y tiocianato de zinc —a través de una placa de toques— se observó similitud de coloración para cada grupo de muestras (tal como se visualiza en las figuras 17 y 18), por lo que se dedujo que podría ser una identificación preliminar para estas sustancias; No obstante, los medicamentos genéricos como los de marcas con IFAs de ketoconazol —sometidos a las mismas condiciones—, al reaccionar con el reactivo de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica, no se observó coloración similar respecto a su estándar secundario (figura 19). Debido a ello, no se podría deducir que clotrimazol, fluconazol y ketoconazol se puedan identificar en esta primera etapa; sin embargo, mediante estas reacciones colorimétricas preliminares, sugirieron ser parte inicial para una investigación a profundizar.

En la segunda etapa, denominada “Reacciones en Tubo”, las soluciones alcohólicas a concentración 6 mg/mL de fluconazol (tanto en estándar secundario como en medicamento genérico y de marca), por reacción con solución acuosa del complejo de tiocianato de níquel, formaron precipitados de color azul celeste —presuntamente con presencia de microcristales (figura 29)—; No obstante, luego de filtrar y secar el precipitado formado, y al visualizar al microscopio óptico, se observó que estos precipitados eran polvos amorfos, y no microcristales. Por consiguiente, fluconazol se identifica sólo con cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica, cloruro de cobalto (II) 0,5N solución acuosa, y complejo de tiocianato de cobalto (II), con los cuales hubo formación de microcristales, siendo éstos indicativos de reacciones positivas para dicha sustancia (figuras 27, 28 y 31).

Para las reacciones con IFAs de clotrimazol y fluconazol —tanto en soluciones 6mg/mL de estándar secundario como de medicamentos genéricos y de marca—, cuando se adicionó gotas del complejo de tiocianato de cobalto (II), las soluciones de los tubos presentaron coloración azul oscura (semejante a la coloración del reactivo), lo cual no permitió visualizar cambio de color o formación inmediata de precipitado (tabla 5 para clotrimazol, y tabla 6 para fluconazol); No obstante, cuando dichos tubos se mantuvieron

cerrados herméticamente y protegidos de la luz por 24 horas, y luego de su respectiva filtración, se observó formación de microcristales (figura 24 para clotrimazol y figura 31 para fluconazol). De esta manera, las muestras de clotrimazol y fluconazol, al reaccionar con el complejo de tiocianato de cobalto (II) generaron microcristales de colores y formas particulares: color rosado coral de forma geométrica con bordes irregulares para clotrimazol (figura 14), y color naranja de forma esferoidal con bordes irregulares para fluconazol (figura 15). Luego de las reacciones con el reactivo del complejo de tiocianato de cobalto, muestras de clotrimazol fueron sometidas a reacciones con solución acuosa de  $\text{CoCl}_2$  0,5N, en donde se formaron cristales irregulares de color rosado, unas en forma de abanico entrelazados, y otras de forma hexagonal (figura 10), y con la reacción de la solución alcohólica de cloruro de cobalto (II) 0,5N se formaron cristales azules puntiagudos —unos sueltos, otros entrelazados—. Teniendo en cuenta estas reacciones positivas en todas las muestras de clotrimazol (coloración y formación de microcristales), es que se deduce la presencia de dicha sustancia con estos reactivos.

Esta diversidad de formas de los cristales se debería, en parte, a que cada fungicida azólico posee varios polimorfos, los cuales tienen diferentes propiedades físico químicas y las hacen únicas, tal es así que acorde a la Farmacopea Europea, clotrimazol presenta 6 polimorfos <sup>(13)</sup>, por lo que dichas formas de cristales podrían variar entre una y otras muestras de la misma categoría.

Muestras de fluconazol también proporcionaron resultados positivos con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución acuosa y cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica, para ambos casos formando cristales monoclinicos color rosado claro transparente con bordes irregulares, aglomeradas unas a otras o libres (figuras 11 y figura 13, respectivamente)—. Al parecer, la no uniformidad de formas se debería a la presencia de polimorfos (en donde acorde a la Farmacopea Europea fluconazol presenta 9 polimorfos) <sup>(13)</sup>, y a la influencia de algunas sustancias solubilizadas presentes en los excipientes de las presentaciones comerciales del medicamento con IFA de fluconazol; Sin embargo, teniendo en cuenta estas reacciones positivas en las muestras de fluconazol (coloración y formación de microcristales), es que se refuerza la convicción del contenido de fluconazol en las muestras analizadas con estos reactivos.

En muestras de ketoconazol que fueron sometidas a reacciones con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II) —tanto para el estándar secundario, medicamento genérico y de marca)—, formaron microcristales

aglomerados de forma asimétrica de coloración azul tenue verdoso claro para con el reactivo de cloruro de cobalto II alcohólico (figura 16a y figura 35), y microcristales poliédricos de forma esferoidal puntiagudos con bordes irregulares (algunos laminares), coloreados de azul intenso (figura 16b y figura 38) para con el reactivo del complejo de tiocianato de cobalto (II); Por lo tanto, considerando estas reacciones como positivas (coloración y formación de microcristales), y acorde a la farmacopea Europea en donde se indica que ketoconazol presenta 5 polimorfos <sup>(13)</sup>, se refuerza la hipótesis de que el compuesto analizado para dichas muestras fue de ketoconazol.

Si bien los resultados para miconazol se muestran en la tabla 8, y no se logra obtener microcristales con los reactivos empleados, sí se logra observar cierta particularidad con uno de los reactivos estudiados. Éste corresponde al reactivo del complejo de tiocianato ferroso, en donde se observó cambio de coloración de marrón claro opalescente a rojo granate (siguiendo la misma metodología y mismas condicionales: cerrado herméticamente y protegido de la luz durante 24 horas), por lo que le permite diferenciarse del resto de azoles. Cabe mencionar que dicho resultado fue realizado sólo con muestra de estándar secundario de miconazol, mas no con otros medicamentos con el mismo IFA, debido a la escasez del medicamento monofármaco al momento de la presente investigación.

Es importante precisar que luego de una exhaustiva búsqueda bibliográfica sobre este tipo de investigación, no se registró dato alguno sobre investigaciones para la identificación de antibióticos fungicidas azólicos siguiendo este tipo de metodología y con los reactivos empleados; Sin embargo, en la actualidad existe una publicación sobre Identificación de Antiinflamatorios No Esteroideos (AINES) —liderada por el asesor de la presente tesis—, donde aplicó similar metodología con reactivos diferentes tales como el “reactivo de Fred”, “reactivo de Mandelin”, “reactivo de Marquis”, “reactivo de Erdman” y complejo de tiocianato de cobalto <sup>(24)</sup>. Dicha investigación fue motivo de inspiración para desarrollar la presente tesis dentro de otra categoría de fármacos y aplicando otros reactivos.

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ Se puede identificar estándares secundarios de clotrimazol y fluconazol con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución acuosa, cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II), e identificar estándares secundarios de ketoconazol con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II), a través de reacciones secuenciales colorimétricas y de microcristalización.
- ✓ Se puede identificar medicamentos genéricos y de marca con IFAs de clotrimazol y fluconazol con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución acuosa, cloruro de cobalto (II) 0,5N alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II), e identificar medicamentos genéricos y de marca con IFAs de ketoconazol con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II), a través de reacciones secuenciales colorimétricas y de microcristalización.
- ✓ Se puede identificar antibióticos fungicidas azólicos como clotrimazol, fluconazol y ketoconazol con reactivos de cloruro de cobalto (II) 0,5N solución acuosa, cloruro de cobalto (II) 0,5N solución alcohólica y complejo de tiocianato de cobalto (II), a través de reacciones secuenciales colorimétricas y de microcristalización.

## 9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar tubos con tapa rosca para estudios posteriores vinculados a reacciones en tubos de ensayos, y mantenerlos cerrarlos herméticamente por un mínimo de 24 horas, para así evitar interacción con sustancias del medio ambiente, especialmente el oxígeno, de esta manera se podrá obtener formación de cristales característicos y observables dentro del tubo.
- Se recomienda utilizar medicamentos monofármacos para la identificación de medicamentos con el ingrediente farmacéutico activo de miconazol; es decir, solamente con el IFA de miconazol (o en su forma de sal: nitrato), mas no este fármaco asociado con otros principios activos, de esta manera se obtendrán resultados positivos basados en el viraje de coloración de marrón claro opalescente a rojo granate con el reactivo de complejo de tiocianato ferroso.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grégori B. Estructura y actividad de los antifúngicos. Revista cubana de farmacia, Cubana Farm. [Internet]. 2005, 39 (2): 1-15. [Citado 18 de octubre del 2018]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152005000200012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200012)
2. Khashaba P, El-Shabouri S, Emara K, Mohamed A. Analysis of some antifungal drugs by spectrophotometric and spectrofluorimetric methods in different pharmaceutical dosage forms. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2000; 22(1): 363-376.
3. Zahra N. Extractive spectrophotometric determination of ketoconazole, clotrimazol and fluconazole by ion-pair complex formation with bromothymol blue and picric acid. J. Chil. Chem. Soc, 2012; 57(2): 1104-1108.
4. Shaligram R, Padmaja P. Spectrophotometric method for the determination of ketoconazole based on amplification reactions. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012; 2(1): 43-47.
5. Shaikh N, Narayana B. Spectrophotometric and spectroscopic studies on charge transfer complexes of the antifungal drug clotrimazole. Journal of Taibah University for Science, 2017; 11(1): 710-717.
6. Ministerio de Salud. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas. Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales; 2da. Ed. Lima: Ministerio de Salud, 2008. 815 p.
7. Allevato A, Negroni R, Galimberti R. Antifúngicos: Ayer, hoy y mañana. Act Terap Dermatol, [Internet]. 2007 [Citado 22 de octubre del 2018]; 30 (8): 8-11, Disponible en: [http://www.atdermae.com/pdfs/atd\\_30\\_01\\_02.pdf](http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf)
8. World Health Organization. Basic tests for pharmaceutical dosage forms [Internet]. Geneva, World Health Organization; 1991. [Revisado 2017; Citado 01 de noviembre del 2018]. Disponible en: [apps.who.int/medicinedocs/pdf/h1794e/h1794e.pdf](https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/h1794e/h1794e.pdf)

9. Marchante P, Zumbado H, Gonzáles A, Alvarez M, Hernández L. Análisis Químico Farmacéutico: Métodos Clásicos Cuantitativos. [Internet]. La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, 2014. [Citado 15 de agosto del 2018]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/sanrafael-1/analisis-quimicofarmacaceuticometodosclasicoscuantitativos>
10. British Pharmacopeia 2000, Her Majesty's Stationery office, 2000, Londres, Reino Unido. Volumen 2. pp. 2101.
11. Real Farmacopea Española. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 1997.
12. Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP 40 & NF 35. USA: The United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD; 2017. pp. 3876, 4654, 5215, 5657.
13. European Pharmacopoeia, 9th Edition V. 1, 2 3. France: EDQM Council of Europe, Strasbourg, Cedex; 2016. pp. 2136, 2484, 2849, 3065, 3066.
14. Moffat A, Osselton M, and Widdop B. Colour Tests. In: Jo Watts. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceutical, body fluids and postmortem material. 4a ed. Chicago: Pharmaceutical Press; 2011. p. 471-495; 2463-2464
15. Organización Mundial de la Salud. Medicamentos falsificados: Pautas para la formulación de medidas para combatir los medicamentos falsificados. [Internet], Geneva, Organización Mundial de la Salud; 1999. [Revisado 2017; [Citado 26 de agosto del 2018]. Disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Jh2968s/>
16. Tardif E. Medicamentos falsificados: una píldora difícil de tragar y un reto sanitario global. Anuario Español de Derecho Internacional. [Internet], 2011 [Citado 16 de noviembre del 2018]; 27: 589-595, Disponible en: <https://www.unav.edu/publicaciones/revistas/index.php/anuario-esp-dcho-internacional/article/viewFile/2567/2440>
17. Instituto de Seguridad Farmacéutica (PSI). El desafío de los Medicamentos falsificados, [Internet]. Washington, PSI, 2002 [Citado 10 de octubre del 2018]. Disponible en: <http://psi-inc.org/spanish/index.cfm>
18. Moreno Exebio LE, Rodríguez J, Sayritupac F. Los medicamentos falsificados en Perú. Rev Panam Salud Pública. 2010;27(2):138-43.

19. Medina E, Bel E, Suñé JM. Counterfeit medicines in Peru: a retrospective review (1997–2014). *BMJ Open* [Internet], 2016 [Citado 10 de octubre del 2018]; 6(4): 1-11. Disponible en: <https://bmjopen.bmj.com/content/bmjopen/6/4/e010387.full.pdf>
20. Penumaka N, Naveena J, Pallavi P, Harish S, and Satyanarayana S. Studies on antimicrobial activity of cobalt (III) ethylenediamine complexes. Canada: Canadian Journal of Microbiology; 2007.
21. Belova A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Química Toxicológica. Rusia: Editorial Medicina Moscú; 1976.
22. Taghreed H, Lekaa K, Fiyral M. Schiff Bases and Ligand Metal Complexes of Some Amino Acids and Drug Substances. Germany: Lambert Academic Publishing; 2016.
23. Pozdniakova VT. Analiz mikrokrystaloskopichesky farma-tezhevticheskyy preparatov y yadov. Yzdatelsvo Medizina Mazkva 1968 ct.38.
24. Saavedra, F., Almonacid, A., Jaúregui, J., Avila, J., Soria, R., Pérez-León, R., Torres, C., Cuba, J., Ayala, N. Análisis secuencial para identificar Antiinflamatorios No Esteroideos (AINES) con reacciones colorimétricas y de microcristalización. *Ciencia e Investigación* 2018 21(1):35-42.

## 11. ANEXO I

En las siguientes vistas se presentan los resultados obtenidos en las reacciones químicas del ensayo a la gota entre cuatro de los reactivos seleccionados y las muestras analizadas de medicamentos con IFAs de clotrimazol (estándar secundario, genérico: Clotrimazol 500 mg tableta vaginal y marca: Clotrival<sup>®</sup> 1% solución tópica), fluconazol (estándar secundario, genérico: Fluconazol 150 mg cápsula y marca: Felusol<sup>®</sup> 150 mg cápsula) y ketoconazol (estándar secundario, genérico: ketoconazol 200 mg tableta y marca: Linzol<sup>®</sup> 200 mg tableta), seleccionados aleatoriamente:



Figura 17. Reacción de ensayo a la gota para clotrimazol

Fuente: Elaboración propia.

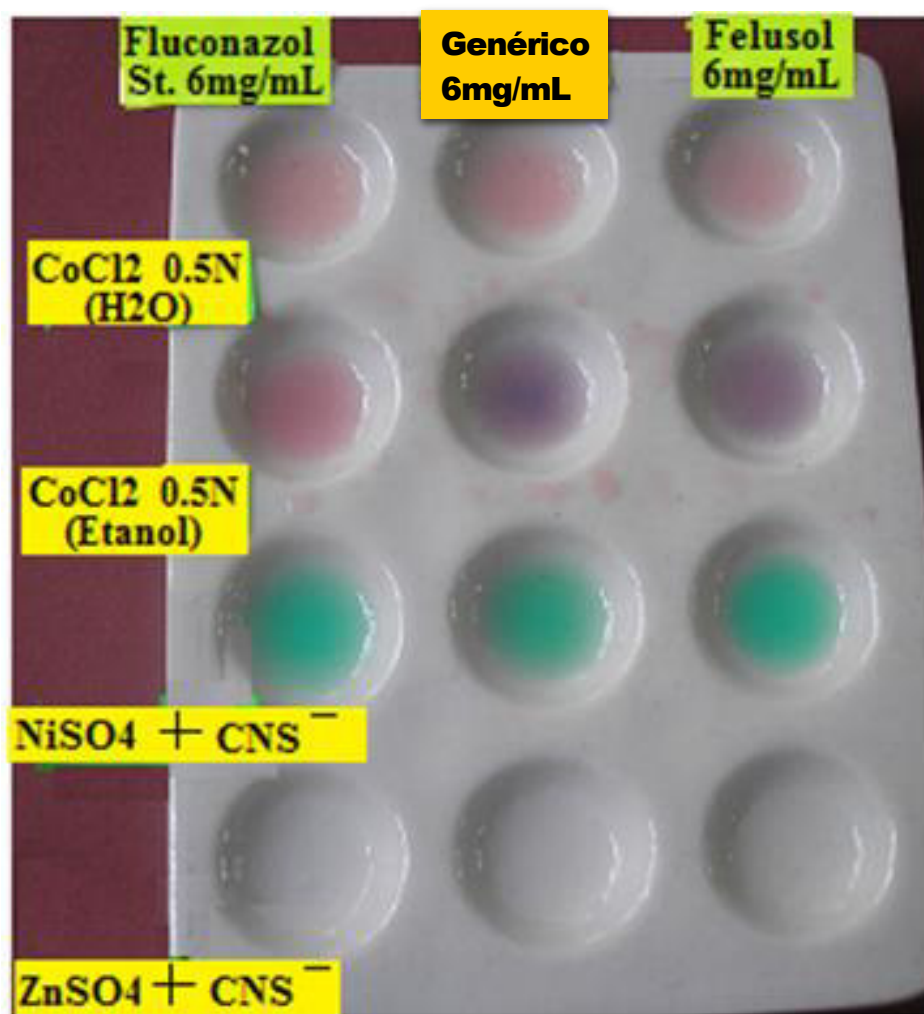


Figura 18. Reacción de ensayo a la gota para fluconazol

Fuente: Elaboración propia.

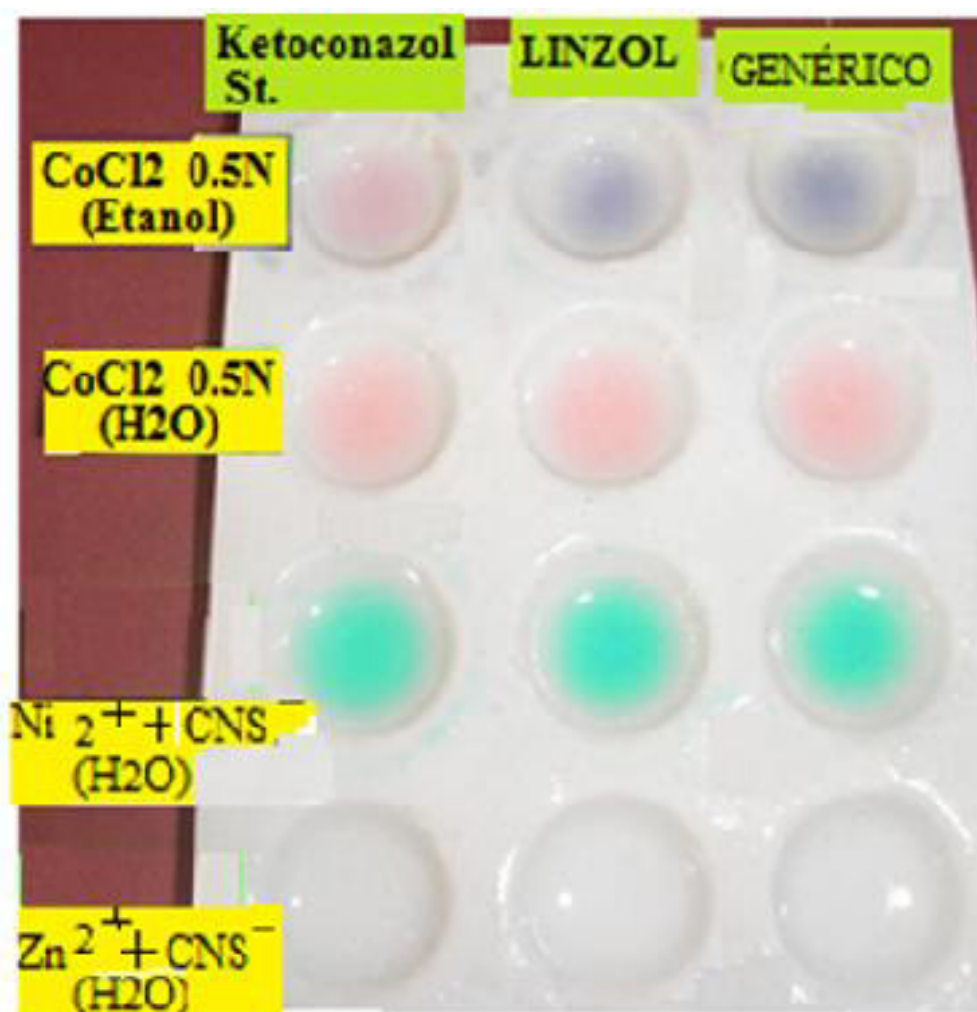


Figura 19. Reacción de ensayo a la gota para ketoconazol

Fuente: Elaboración propia.

## 12. ANEXO II

En las siguientes vistas se muestran los resultados obtenidos en las reacciones químicas en tubos de ensayo entre los reactivos seleccionados y las muestras en soluciones alcohólicas a concentración 6mg/mL de medicamentos con IFAs de clotrimazol (estándar secundario —en adelante denominado como “estándar”—, genérico: Clotrimazol 500 mg tableta vaginal y marca: Clotrival® 1% solución tópica), fluconazol (estándar secundario, genérico: Fluconazol 150 mg cápsula y marca: Felusol® 150 mg cápsula) y ketoconazol (estándar secundario, genérico: ketoconazol 200 mg tableta y marca: Linzol® 200 mg tableta), seleccionados aleatoriamente. En adelante:

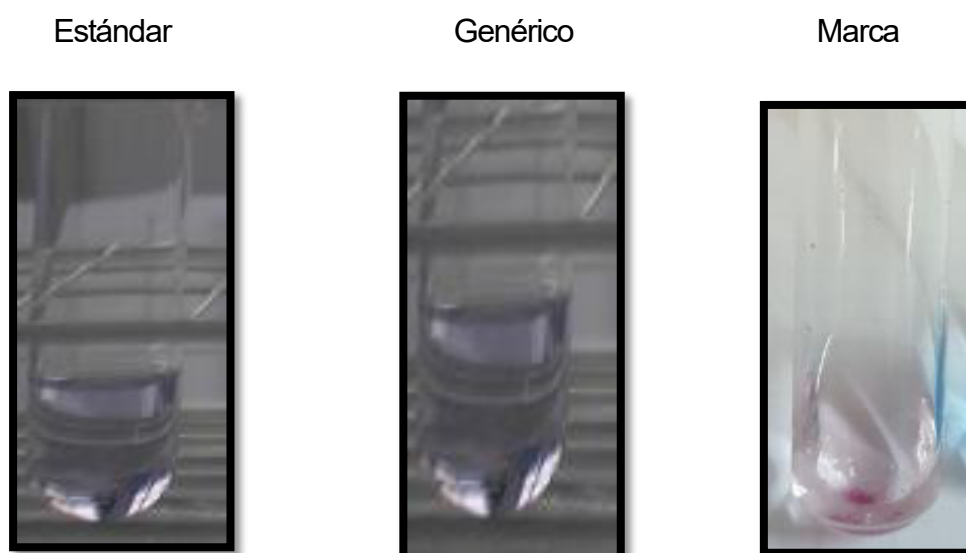


Figura 20. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso.

Fuente: Elaboración propia

Estándar

Genérico

Marca

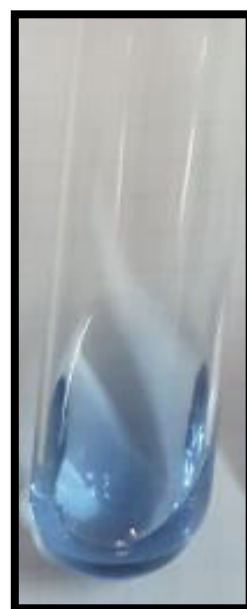


Figura 21. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro de cobalto alcohólico.

Fuente: Elaboración propia



Estándar



Genérico



Marca



Figura 22. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de níquel. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 23. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 24. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II). Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca

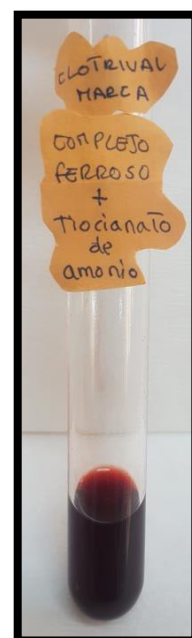


Figura 25. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca

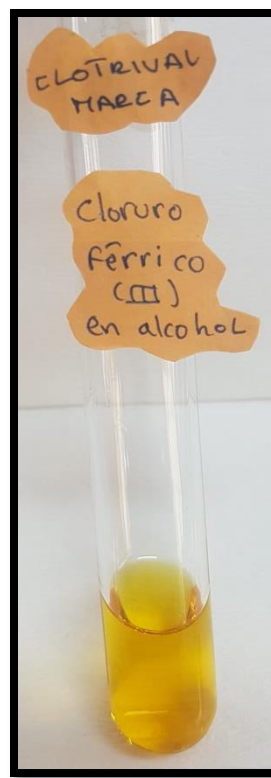


Figura 26. Reacción en tubo para clotrimazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico.

Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 27. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso.

Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 28. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro de cobalto alcohólico.

Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 29. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de níquel. Fuente: Elaboración propia



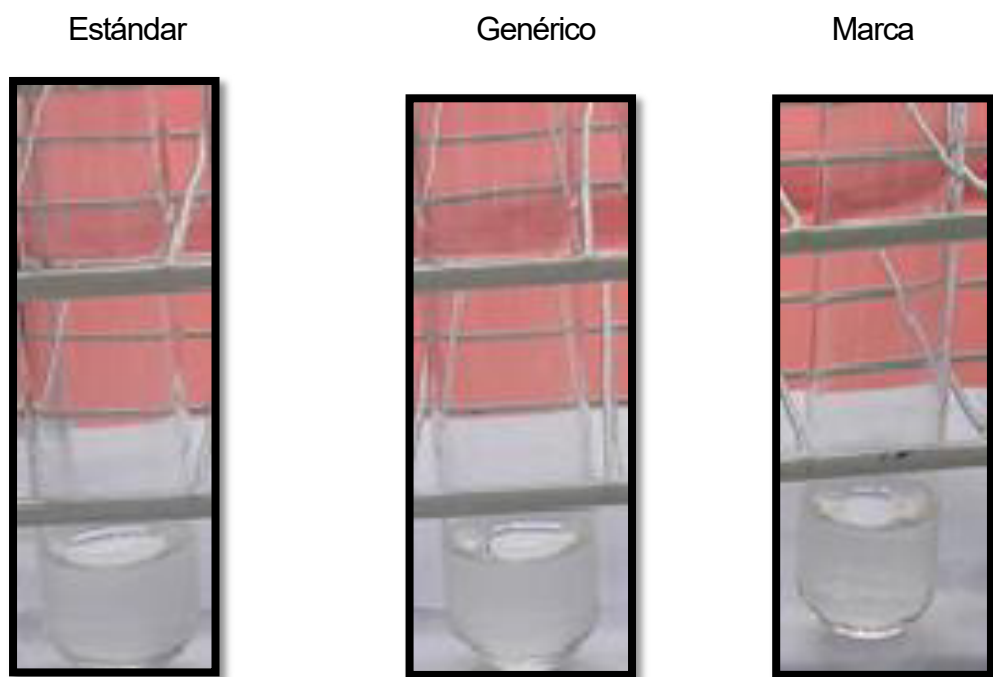


Figura 30. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca

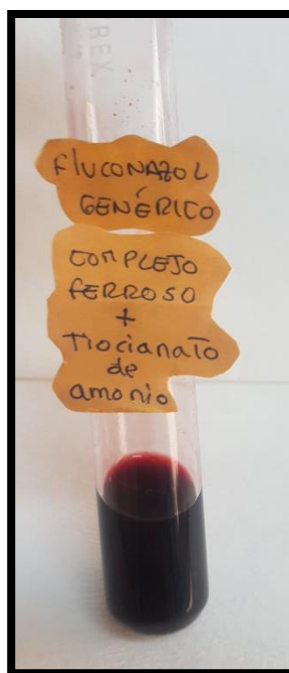


Figura 31. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II). Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca

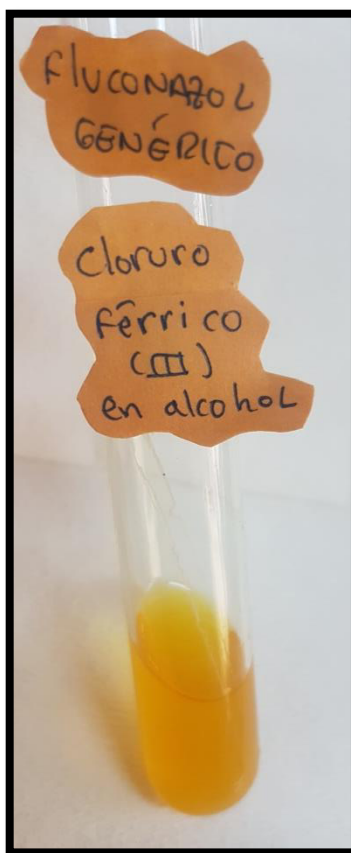


Figura 32. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 33. Reacción en tubo para fluconazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico.

Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



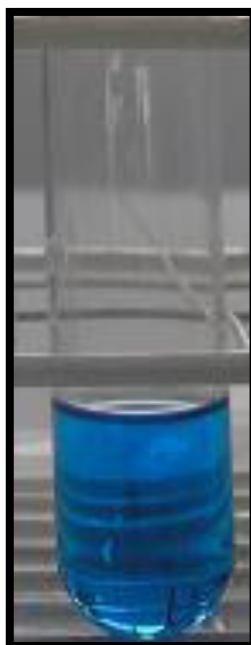
Figura 34. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de cobalto acuoso.

Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 35. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de cobalto  
alcohólico. Fuente: Elaboración propia

Estándar

Genérico

Marca



Figura 36. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro de complejo de tiocianato de níquel. Fuente: Elaboración propia

Estándar

Genérico

Marca



Figura 37. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato de zinc. Fuente: Elaboración propia



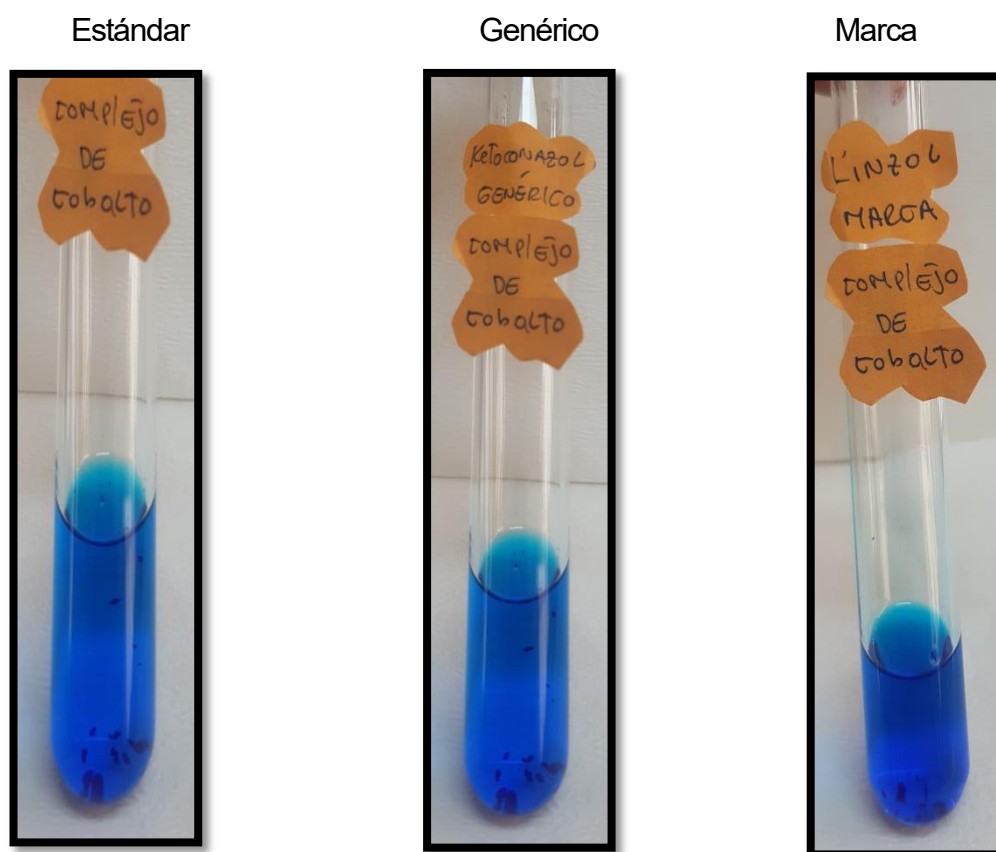


Figura 38. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato de cobalto (II). Fuente: Elaboración propia

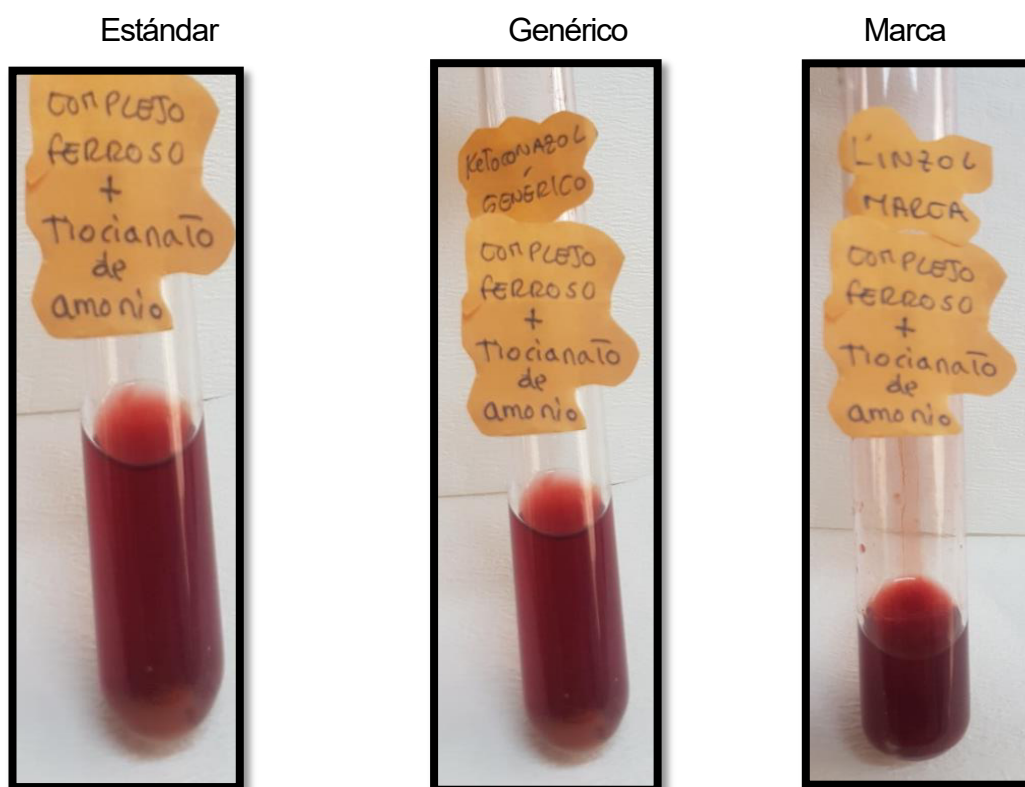
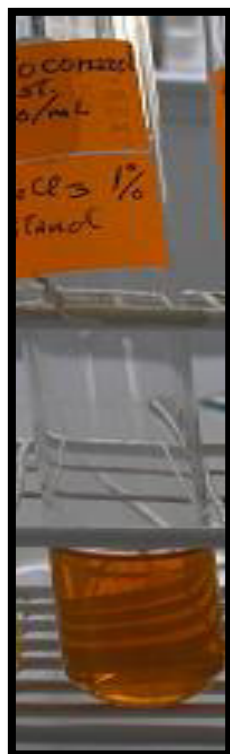
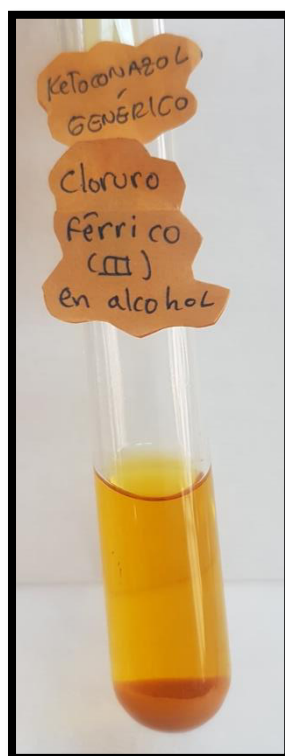


Figura 39. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de complejo de tiocianato ferroso. Fuente: Elaboración propia

Estándar



Genérico



Marca



Figura 40. Reacción en tubo para ketoconazol con reactivo de cloruro férrico alcohólico.

Fuente: Elaboración propia